

# Interareale raumzeitliche Dynamiken und Variabilität der Aktivität neuronaler Populationen im visuellen Kortex der Katze



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

**vom Fachbereich Biologie  
der Technischen Universität Darmstadt**

zur Erlangung des Grades

Doctor rerum naturalium

(Dr. rer. Nat.)

**Dissertation**

**von Daniel Johannes Hofmann**

Erstgutachter: Prof. Dr. Ralf A. W. Galuske

Zweitgutachter: PD Dr. med. Matthias H. J. Munk

Darmstadt, 2020

Hofmann, Daniel Johannes: Interareale raumzeitliche Dynamiken und Variabilität der Aktivität neuronaler Populationen im visuellen Kortex der Katze  
Darmstadt, Technische Universität Darmstadt  
Jahr der Veröffentlichung der Dissertation auf TUpriints: 2020  
URN: urn:nbn:de:tuda-tuprints-114405  
URL: <https://tuprints.ulb.tu-darmstadt.de/id/eprint/11440>  
Tag der mündlichen Prüfung: 31.01.2020  
Veröffentlicht unter CC BY-NC-SA 4.0 International  
<https://creativecommons.org/licenses>

---

## Inhaltsverzeichnis

---

1. Abkürzungsverzeichnis.....	1
2. Summary.....	3
3. Zusammenfassung.....	5
4. Einleitung.....	7
4.1 Retinale Verarbeitung.....	7
4.2 Das <i>Corpus geniculatum laterale</i> .....	10
4.3 Das visuelle System der Katze.....	12
4.4 Innervationen und Integration.....	13
4.5 Neuronale Oszillationen.....	16
4.6 Organisation rezeptiver Felder.....	17
4.7 Area occipitalis.....	18
4.8 Posteromedialer lateraler suprasylvischer Kortex.....	21
4.9 Voltage Sensitive Dye Imaging.....	23
5. Motivation und Fragestellung.....	26
6. Material und Methoden.....	27
6.1 Der Gesamtaufbau.....	27
6.2 Das Stimulationssystem.....	27
6.3 Das optische Ableitsystems.....	28
6.4 Das elektrophysiologische Ableitsystem.....	32
6.5 Vitalüberwachung und Präparation.....	32
6.6 Prozessierung der optischen Daten.....	36
6.7 Prozessierung der elektrophysiologischen Daten.....	41
6.8 Histologie.....	44
7. Ergebnisse.....	46
7.1 Bereinigung der optischen Daten.....	47
7.2 Übersicht Area 18 ( <i>Area occipitalis</i> ).....	55
7.3 Übersicht PMLS.....	60
7.4 Raum-zeitliche Signalverläufe optischer Aufnahmen.....	67
7.5 Einfluss spontaner Aktivität.....	78
7.6 Interareale Kommunikation.....	81
8. Diskussion.....	87
8.1 Bereinigung der optischen Daten.....	88
8.2 Überprüfung der Funktionalität.....	90
8.3 Raum-zeitliche Dynamik spontaner Aktivität.....	92
8.4 Interareale Interaktionen.....	94
8.5 Einfluss spontaner Aktivität auf die Datenvariabilität.....	96
8.6 Fazit und Ausblick.....	101
9. Literaturverzeichnis.....	104
10. Danksagung.....	118
11. Lebenslauf.....	119
12. Ehrenwörtliche Erklärung.....	120

---





## 1. Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
AEV	Anteriores ektosylvisches visuelles Areal
ALLS	Anterolateraler Anteil des lateralen suprasylvian Sulkus
AMLS	Anteromedialer Anteil des lateralen suprasylvischen Sulkus
CA	<i>caudale nucleus</i>
cc	<i>corpus callosum</i>
CCD	Charge-coupled Device
CGL	<i>corpus geniculate laterale</i>
C <sub>M</sub>	Magnozelluläre Schicht des CGL
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
C <sub>P</sub>	Parvozelluläre Schicht de CGL
DLS	Dorsaler Anteil des lateralen suprasylvischen Kortex
ECoG	Elektrocorticogramm
EEG	Elektroenzephalographie
EKG	Elektrokardiogramm
FD	<i>Fascia dentata</i>
FL	<i>Fascia lateralis</i>
IPSC	inibitory postsynaptic current
LFP	Lokales Feldpotential
LP	<i>Nucleus lateralis posterior</i>
ls	<i>lateral sulcus</i>
M	Molar
MEG	Magnetoencephalographie
mg	<i>marginal gyrus</i>
ml	Milliliter
ms (Einheit)	Millisekunde
ms (Hirnareal)	<i>marginal sulcus</i>
mssg	<i>middle suprasylvian gyrus</i>
MUA	Multi-Unit-Aktivität
OT	<i>Tractus opticus</i>
PL	<i>paralimbic cortex</i>

PLLS	Posterolateraler Anteil des lateralen suprasylvischen Sulkus
PMLS	Posteromedialer Anteil des lateralen suprasylvischen Sulkus
ps	<i>posterior suprasylvian visual area</i>
s	Sekunde
SPL	<i>sulcus splenialis</i>
SSPL	<i>sulcus suprasplenialis</i>
SUA	Single-Unit-Aktivität
VLS	Ventraler Anteil des lateralen suprasylvischen Kortex

## 2. Summary

Measurements of neuronal activity in response to sensory stimulation have always shown that the evoked response pattern, be it at single cell level or across neuronal populations, can be very variable. The observed variabilities in individual data sets have been considered to be signal noise, which can be removed by averaging under the assumption of a linear superposition principle between random background noise and a repetitive, stereotyped pattern of the evoked signal. This view has been challenged in recent years. The improvement of optical and electrophysiological data acquisition techniques and simultaneous recordings of neural networks in real time with high spatial and temporal resolution, as well as new methods of data analysis, made it possible to analyze on level of single trial recordings. It was shown that the observed variability is not necessarily of random origin, but reflects real conditions of highly dynamic cortical activity. According to latest views in neuroscience, this variability is associated with spontaneous neuronal activity. The variability within spontaneous activity, in turn, reflects different stages of the brain's perception, attention, and information processing. This led to the assumption that the brain generates an internal expectation based on individual experiences, which in turn can have a modulatory effect on the neuronal response behavior to a stimulus. Interareal mechanisms originating in thalamus, higher cortical areas or local neuronal spontaneous activity are discussed as different modulators with presumably different spontaneous dynamics. So far, it has been shown that spontaneous activity plays a major role in the temporal development of functional neural networks and in the processing of internal and external signals. This not only affects individual areas but also includes interareal interactions in various hierarchically organized pathways of information processing. From this knowledge, the central questions of systemic neurophysiology developed, namely how the brain encodes information in these dynamic networks and what influence modulatory mechanisms exert on information processing.

In the present work, the spatial-temporal dynamics of the spontaneous activity as well as the variability of the response behavior to external stimulation of the visual system of anesthetized cats in the context of interareal communication were analyzed. In Area 18, the spatial activity of large neuron populations was recorded using the optical recording method of Voltage Sensitive Dye Imaging (VSDI). Despite constant experimental and stimulation conditions, a high degree of variability in the neuronal responses to a repeated stimulus was also present in this study, which successfully could be linked to neuronal processes. In order to analyse the data variability, it was necessary to work with single trial recordings. VSDI data presented a special challenge due to their signal-to-noise ratio. Hence Identification and reduction of technical, physical and biological artefacts in the temporal structure of signals was of particular importance.

Despite optimal recording conditions and removal of sources of interference, a remaining variability in the evoked recordings was found. Before stimulation, high and low phases of spontaneous activity could be identified on the basis of the VSDI recordings, in which activity patterns occurred which spatially resembled spatio-temporal activity patterns evoked by visual stimuli. The degree of excitation of the stimulated neural networks in area 18 could be proven to dependent on previous spontaneous states. Simultaneous electrophysiological recordings of action and field potentials activity and optical VSDI recording in area 18 as well as in hierarchically higher posterior suprasylvianic cortex (PMLS) were derived to investigate the role of interareal communication channels in this context.

In summary, it could be shown that the variations within the optical data are not based on biological or technical interference, but of neuronal origin and can represent an internal state due to their spontaneously occurring activity patterns. The extent of the spontaneous activity shortly before the stimulation influences the amplitude of the evoked activity. This relationship was also related to the topology of area 18 and showed a high degree of spatio-temporal dynamics. In addition, communication with the hierarchically higher visual area PMLS was analyzed and these activity patterns could be associated with the spontaneous states in area 18 and, thus, be classified as a feedback system. Overall, it can be stated that in the present study and with the analytical techniques established in the context of this work, clear indications could be found that suggest that internal states in the central nervous system play an essential role in the processing of sensory information.

### 3. Zusammenfassung

Die Wahrnehmung von und Reaktion auf externe Reize im Nervensystem ist nicht nur von instantaner Informationsverarbeitung abhängig sein, sondern beruht auch auf Erfahrungen, Erwartungshaltungen und Aufmerksamkeitsphänomenen, die man auch als Zustände des informationsverarbeitenden Systems ansehen kann. Interne Zustände können daher bei der Modulation neuronaler Aktivität als Reaktion auf Sinnesreize eine zentrale Rolle spielen. Bei der Messung neuronaler Antworten auf externe Stimuli ist weithin bekannt, dass diese Antworten trotz unveränderter Stimulationsbedingungen sehr variabel ausfallen können. Die beobachtete Variabilität in einzelnen Datensätze wurden oft als Störsignale aufgefasst, die durch Mitteln aus dem evozierten Signalverlauf entfernt wurden. Methodisch ging man dabei bisher von einem linearen Superpositionsprinzip zwischen zufällig auftretendem Hintergrundrauschen und einem repetitiven, stereotypen Signal aus. Diese Ansicht wurde in den letzten Jahren zunehmend in Frage gestellt. Die Verbesserung sowohl optischer- als auch elektrophysiologischer Techniken zur simultanen Aufnahme neuronaler Netzwerke in Echtzeit mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung sowie die Entwicklung neuer Methoden der Datenanalyse ermöglichten erstmals die Analyse auf Niveau von Einzelaufnahmen. Dabei hat sich gezeigt, dass eine seit jeher beobachtete Variabilität in den Daten nicht ausschließlich statistisch zufälligen Ursprungs ist, sondern reale Zustände einer hochdynamischen kortikalen Aktivität widerspiegelt. Nach neuester Auffassung wird diese Variabilität mit spontaner neuronaler Aktivität in Verbindung gebracht. Man nimmt an, dass die Variabilität evozierter neuronaler Antworten in Zusammenhang mit vorangehender oder sogar anhaltender spontaner Aktivität steht und dass diese Variabilität innerhalb der Spontanaktivität wiederum verschiedene Stadien der Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Informationsverarbeitung des Gehirns widerspiegelt. Dies führte zu der Auffassung, dass das Gehirn eine auf individuelle Erfahrungen basierende internen Erwartungshaltung generiert, die sich modulatorisch auf das neuronale Antwortverhalten auf eine Stimulation auswirken können. Als Modulatoren werden interareale Mechanismen ausgehend vom visuellen Thalamus, höheren kortikalen Arealen oder lokale neuronale Spontanaktivität diskutiert. Daraus können sich unterschiedliche spontane Dynamiken ergeben, deren Aufklärung Teil anhaltender Forschung darstellt. Bisher konnte gezeigt werden, dass die Spontanaktivität eine große Rolle bei der zeitlichen Entwicklung funktioneller neuronaler Netzwerke und bei der Verarbeitung interner und externer Signale spielt. Dies betrifft nicht nur einzelne Areale, sondern kann auch interareale Interaktionen in den verschiedenen hierarchisch organisierten Pfaden der Informationsverarbeitung umfassen. Aus dieser Erkenntnis entwickelten sich die zentralen Fragen der systemischen Neurophysiologie, nämlich wie das Gehirn Informationen in diesen dynamischen Netzwerken codiert und welchen Einfluss modulatorische Mechanismen auf die Informationsverarbeitung

ausüben. In der vorliegenden Arbeit wurde die raum-zeitliche Dynamik der spontanen Aktivität sowie die Variabilität des Antwortverhaltens auf externe Stimulation des visuellen Systems anästhesierter Katzen im Kontext interarealer Kommunikation analysiert. Unter Verwendung der optischen Aufnahmemethodik des „Voltage sensitive dye“ – Imaging (VSDI) wurde in Area 18 des primären visuellen Kortex der Katze simultan die räumliche Aktivität großer Neuronenpopulationen erfasst. Wie bereits erwähnt, hat sich auch in dieser Arbeit gezeigt, dass trotz konstanter Versuchs- und Stimulationsbedingungen eine hohe Variabilität der neuronalen Antworten auf einen wiederholt präsentierten Stimulus auftrat. Um die Variabilität der Daten in Bezug auf die vorangehende spontane Aktivität zu untersuchen, war es notwendig ohne das Aufmitteln von Daten zu arbeiten. VSDI-Aufnahmen stellten dabei aufgrund ihres Signal-Rausch-Verhältnisses eine besondere Herausforderung dar. Die Identifikation und Reduktion technischer, physikalischer und biologischer Artefakte im Signalverlauf der VSDI-Aufnahmen war für diese Arbeit daher von besonderer Bedeutung. Trotz optimaler Aufnahmebedingungen und Bereinigung der VSDI-Daten von Störquellen konnte eine verbleibende Variabilität in der evozierten Aktivität festgestellt und neuronale Prozessen zugeordnet werden. Vor Stimulationsbeginn konnten auf Basis der optischen VSDI-Aufnahmen Phasen hoher und niedriger spontaner Aktivität identifiziert werden, in denen Aktivitätsmuster auftraten, die räumlich der stimulierten Aktivität ähnelten. Der Erregungsgrad der stimulierten neuronalen Netze in Area 18 zeigte dabei eine Abhängigkeit zu vorangehenden spontanen Zuständen. Simultan zu den optischen Daten wurden elektrophysiologisch Aktions- und Feldpotentiale in Area 18 und im posterioren suprasylvanischen Kortex (PMLS) abgeleitet, um die Rolle von interarealen Kommunikationswegen in diesem Zusammenhang zu untersuchen. Zusammengefasst konnte gezeigt werden, dass die Variationen innerhalb der optischen Daten nicht auf biologischen oder technischen Störeinflüsse beruhen, sondern dass sie neuronalen Ursprungs sind und durch spontan auftretenden Aktivitätsmuster einen internen Zustand darstellen können. Das Ausmaß der Spontanaktivität kurz vor Einsatz der Stimulation beeinflusst dabei die Amplitude der evozierten Aktivität durch die Stimulation. Dieser Zusammenhang wurde auch in Relation zur Topologie der optischen Aufnahmen von Areal 18 gesetzt und zeigte eine im hohen Maß räumlich abhängige Dynamik. Außerdem konnte die Kommunikation zu dem hierarchisch höheren visuellen Areal PMLS festgestellt werden, dessen Aktivität mit den spontanen Zuständen in Verbindung gebracht und als Feedback-System eingeordnet werden konnte. Insgesamt lässt sich festhalten, dass in der vorliegenden Studie und mit den im Rahmen dieser Arbeit etablierten Analysetechniken deutliche Hinweise gefunden werden konnten, die nahelegen, dass interne Zustände im Zentralnervensystem eine wesentliche Rolle bei der Verarbeitung sensorischer Informationen einnehmen.

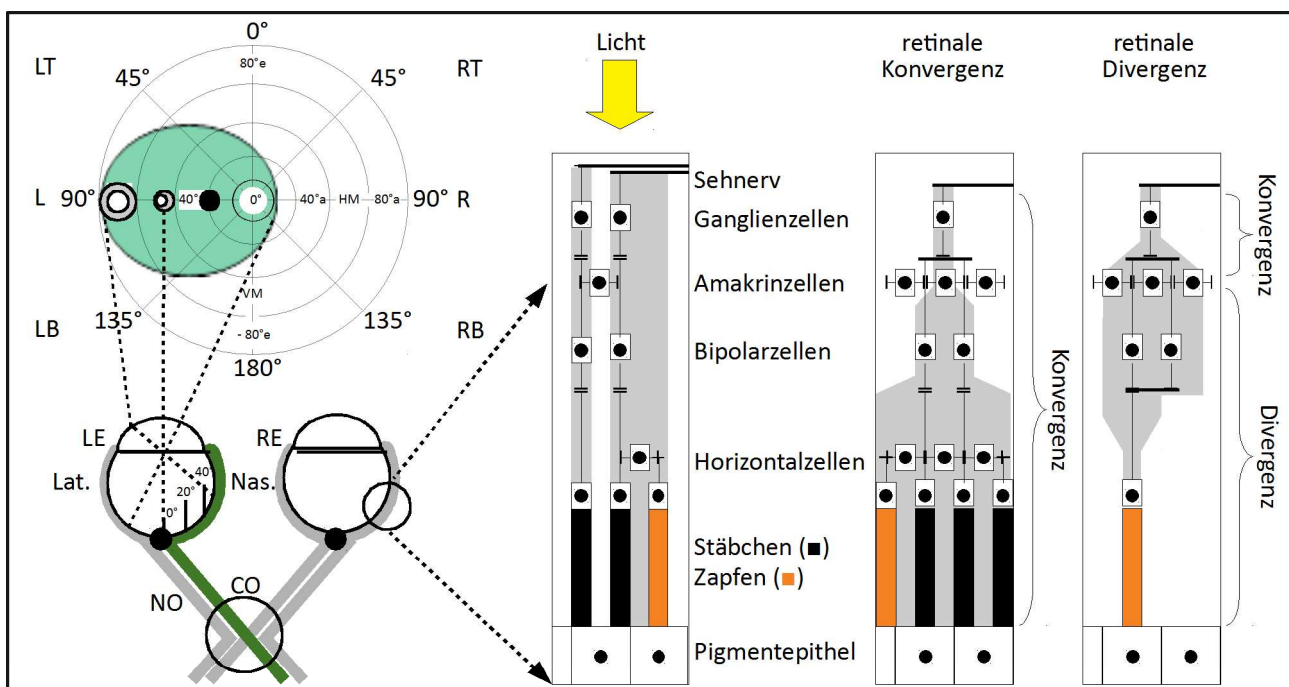
## 4. Einleitung

Wenn wir unsere Augen öffnen, entfaltet sich ein Panorama aus Farben und Formen, die sich bewegen, stationär sind und räumliche Tiefe aufweisen. Jede Bewegung führt zu kleinen oder großen Veränderungen dieses Panoramas. Trotzdem nehmen wir Objekte unserer Umgebung weiterhin wahr, selbst wenn es sie sich für einen kurzen oder längeren Moment nicht mehr in unserem Gesichtsfeld befinden. Es fällt uns in der Regel nicht schwer einem Element der Szenerie zu folgen und angemessen, oft gar vorausschauend, auf etwas zu reagieren. Zumindest im Bezug auf jene Elemente, die wir innerhalb unseres Gesichtsfeldes tatsächlich bewusst und oft sogar unbewusst wahrnehmen. Die scheinbare Simplizität des Sehvorgangs täuscht darüber hinweg, dass viele Inhalte der durch unsere Augen eintretenden visuellen Informationen über die Stufen ihrer Prozessierung ignoriert werden können und dass es sich dabei um einen durchaus sinnvollen Mechanismus handelt. Wie entsteht nun aus einem Strom einfallender Photonen in unsere Augen ein kohärentes Bild unserer Umwelt? Wie transformiert das Gehirn diese Information in ein Abbild von Bewegungen, Formen, Kontrasten und Farben, die wir voneinander unterscheiden können? Wie sehen wir überhaupt scharf und welche Rolle spielt unsere Aufmerksamkeit? Wie wird entschieden, welche Inhalte von Bedeutung sind und welche aus dem visuellen Informationsfluss herausgefiltert werden? Einige dieser und weitere Fragen sind in Teilen beantwortet, vieles ist jedoch weiterhin Teil anhaltender Forschung. Technische Fortschritte der letzten Jahrzehnte und dadurch zugängliche mathematische Analysemethoden, sowie zeitlich als auch räumliche hochauflösende Aufnahmeverfahren liefern einen zunehmend tieferen Einblick in das komplexe System der visuellen Informationsverarbeitung. In der Einleitung wird zunächst ein Überblick zur retinalen Verarbeitung und sowie über primäre thalamische Strukturen gegeben. Es folgt die spezifische Erläuterung des Aufbaus des visuellen Systems der Katze und eine Zusammenfassung für diese Arbeit relevanter Interaktions- und Integrationsmechanismen. Außerdem wird auf die hier verwendete optische Aufnahmetechnik eingegangen

### 4.1 Retinale Verarbeitung

Das Gesichtsfeld eines frontal ausgerichteten Augenpaares sei im Folgenden als zweidimensionales Polarkoordinatensystem (Abbildung 1) mit Breitengraden (Elevation =  $e$ ) und Längengraden (Azimut =  $a$ ), sowie einem horizontalen und vertikalen Median, die das Feld in vier Quadranten teilen, zu verstehen. Die durch den vertikalen Median getrennte laterale Ausbreitung entlang des Azimut geht dabei jeweils in das Gesichtsfeld eines Augenkomplexes über. Beim Eintreffen des Lichts durch die Linse des Auges wird das Bild jedes monokularen Gesichtsfeldes zunächst gedreht (Kepler, 1604; Scheiner, 1619; Polyak, 1941), sodass die nasalen retinalen Bereiche jeweils nach außen und die temporalen Bereiche nach innen sehen (Abbildung 1,

grüne Fläche). Die binokulare Schnittfläche beider monokularen Gesichtsfelder bildet das für scharfes und dreidimensionales Sehen zuständige, zentrale visuelle Gesichtsfeld und den Ursprung des Polarkoordinatensystems. Die erste Eingangsstufe visueller Information bilden die Photorezeptorzellen der Retina, die in Stäbchen für die Wahrnehmung von Hell und Dunkel und Zapfen für die Wahrnehmung von Farben unterteilt werden. Die Lichtsignale werden innerhalb der Retina von den Photorezeptorzellen vertikal auf Bipolarzellen, als auch lateral über Horizontal- und Amakrinzellen und schließlich auf Ganglienzellen auf Basis synaptischer Übertragung weitergeleitet. Dabei bildet die Verschaltung dieser Zellengruppen untereinander eine sowohl konvergierende als auch divergierende Signalausbreitung aus.

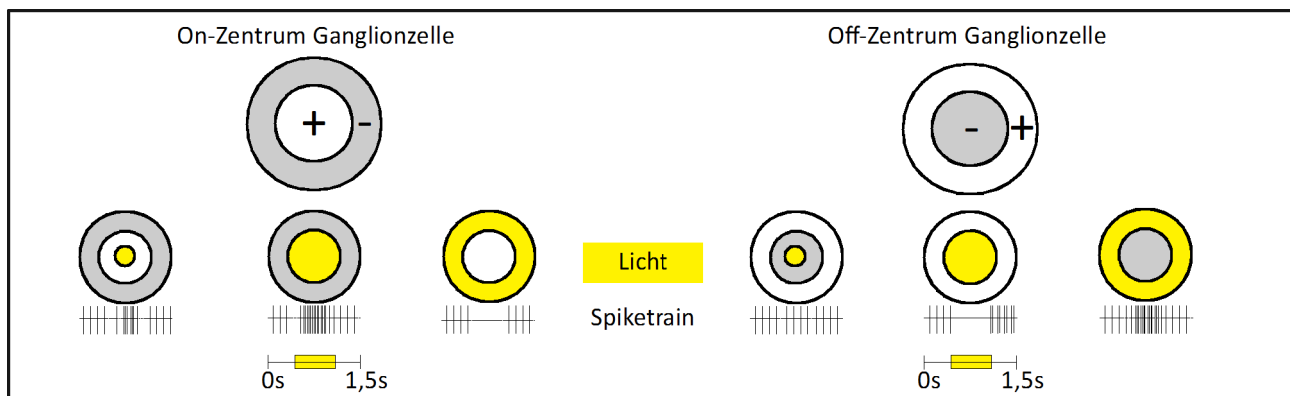


**Abbildung 1:** Schematische Übersicht der Organisation von Konvergenz und Divergenz retinaler Verschaltungen. Beim Durchgang des Lichts durch die Iris wird das Gesichtsfeld zunächst um 180° gedreht. Das linke Gesichtsfeld (grün) wird dabei ausgehend von der Mittellinie (0°) auf der Retina gegen rostral abgebildet. Licht durchdringt die Zellschichten der Retina, bevor die es die photorezeptiven Zellen erreicht. Horizontal- und Amakrinzellen ermöglichen durch hemmende oder erregende laterale Verschaltung einen konvergierenden oder divergierenden Informationsfluss, und damit die erste Stufe der Verarbeitung, von den Photorezeptoren auf Bipolar- und spezielle Ganglienzellen, deren Axone den Ursprung des sich am *Chiasma opticum* (CO) kreuzenden Sehnervs (*Nervus opticus*, NO) bilden.

Empfängt eine Horizontalzelle ein Signal eines Photorezeptors, so überträgt sie es auf benachbarte Rezeptorzellen und Bipolarzellen, hemmt aber zugleich lateral benachbarte Zellen, sodass Gruppen von Photorezeptoren, je nach Verschaltung, durch ihre Beiträge die rezeptiven Felder der nachgeschalteten Zellen (Abbildung 2) durch (meist nicht-lineare) Superposition der Eingangssignale bilden oder direkt auf die Dendriten der einzelnen Ganglienzellen konvergieren. Das durch eine Ganglienzellen repräsentierte



rezeptive Feld ist konzentrisch aufgebaut und weist eine antagonistische Aufteilung bestehend aus einem Zentrum und einer umgebenden Zone auf, die jeweils erregbar (+) oder hemmend (-) wirken. Rezeptive Felder mit erregbarem Zentrum und hemmender Peripherie werden den On-Ganglienzellen und im umgekehrten Fall den Off-Ganglienzellen zugeordnet. Die Ganglienzellen erzeugen innerhalb der Retina die ersten Aktionspotentiale und leiten Signale über den Sehnerv weiter, wobei die Rate der generierten Aktionspotentiale in Abhängigkeit von vielen verschiedenen visuellen Parametern abhängen, u.a. von der Lichtintensität und dem Kontrast in der jeweiligen erregbaren oder hemmenden Zone (Kandel et al., 2000).



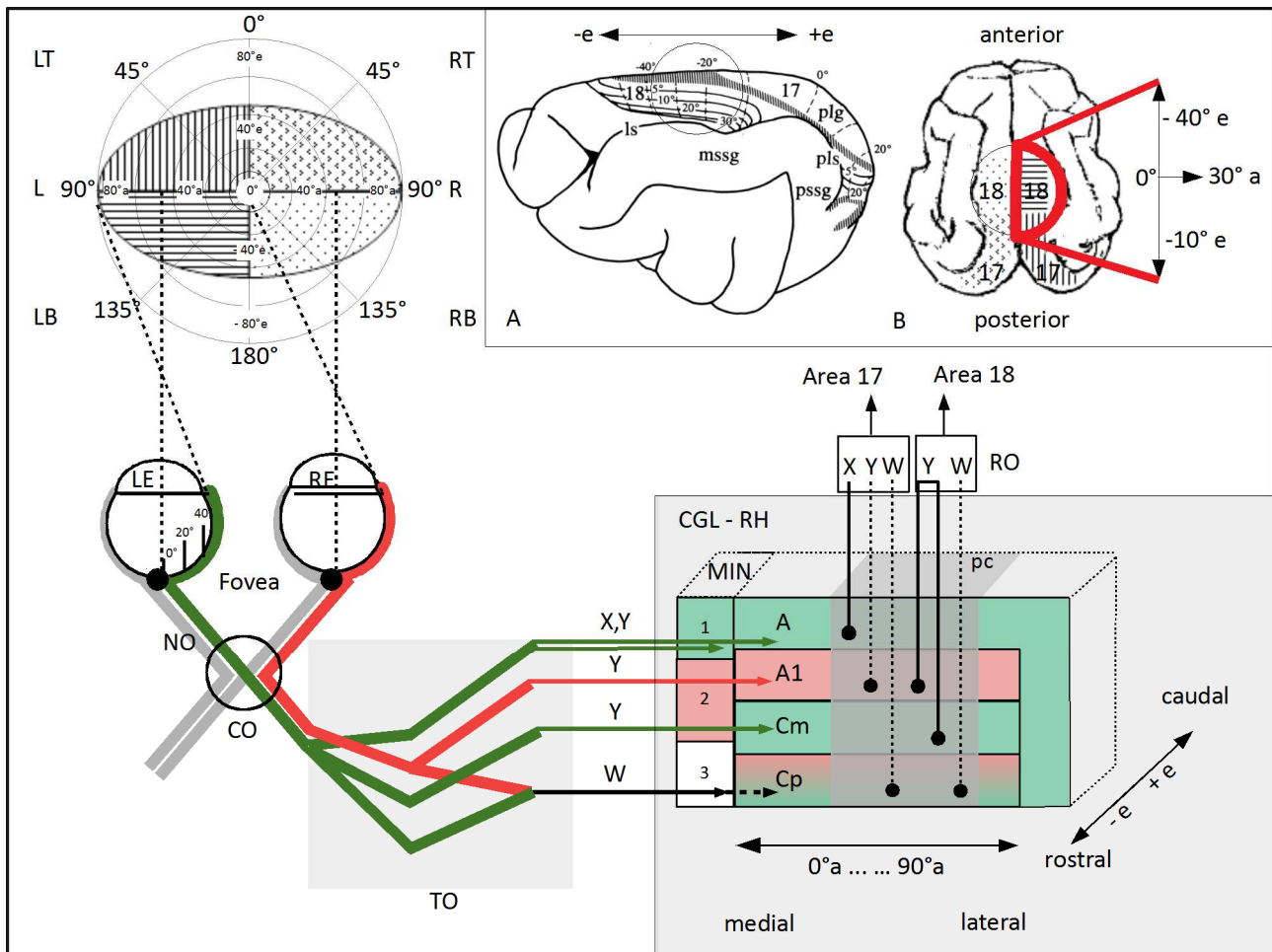
**Abbildung 2:** Durch Verschaltung von Photorezeptorzellen auf Ganglienzellen konvergierende rezeptive Feldkonfigurationen der Retina mit hemmenden (-) und erregbaren (+) Bereichen, sowie die Abhängigkeit der ganglionalen Aktionspotentiale von der Beleuchtung des Feldes (modifiziert nach Kandel et al., 2000).

Die Spezialisierung von Ganglienzellen auf unterschiedliche Aspekte des visuellen Eingangssignals, wie Kontrast-, Intensitäts- und Bewegungsänderungen sowie Farberkennung, hat ihren Ursprung in der Komplexität der retinalen synaptischen Verbindungen. Rezeptive Felder nehmen dabei unterschiedliche Größen und Zusammensetzungen aus Photorezeptoren an, deren Ganglienzellen für diese Aspekte codieren und bei Wirbeltieren in  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  - Ganglienzellen unterteilt werden. Die Axone dieser Ganglienzellen werden dabei am blinden Fleck gebündelt und leiten als *Nervus Opticus* (NO, Sehnerv) die Signale des Augenkomplexes zunächst an das *Chiasma Opticum* (CO) weiter (Levick, 1975; Peichl & Wässle, 1979; Peichl, 1992; Payne & Peters, 2001). Am *Chiasma Opticum* teilen sich die axonalen Bündel des *Nervus Opticus* in zwei neue Bahnen für das jeweils linken und rechten Auges auf. Die mit den nasal gelegenen rezeptiven Feldern der Retina assoziierten Axone ziehen in die jeweils kontralaterale Hirnhälfte, zunächst in das Zwischenhirn und nach Umschaltung in die Grosshirnhemisphären, während die mit den lateral gelegenen Feldern assoziierten Axone in ihrem jeweils linken oder rechten Bahnverlauf verbleiben. Somit bekommt jede Gehirnhälfte Informationen aus beiden Augen, wobei die linke Hemisphäre das rechte monokulare Gesichtsfeld und umgekehrt die rechte Hemisphäre das linke monokulare Gesichtsfeld abdeckt. Die Axone der Sehnervs werden nach dem Austritt aus dem *Chiasma Opticum* als *Tractus Opticus* über einen

sekundären visuellen Pfad zu subkortikalen Zentren wie dem *Colliculus Superior* (CS), dem Pulvinar Komplex und *Prätectum* im Mittelhirn und über einen primären, retinogenicularen visuellen Pfad in das *Corpus geniculatum laterale* (CGL) im dorsalen Thalamus weitergeleitet (Kandel et al., 2000).

## **4.2 Das *Corpus geniculatum laterale***

Die retinogeniculate Übertragung visueller Information an Relaiszellen des *Corpus geniculatum laterale* (CGL) erfolgt dabei bei allen Wirbeltieren über drei parallel verlaufende Projektionspfade, ausgehend von den  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  – Ganglienzellen. Im Fall der Katze spricht man spezifisch von den Y -, X - und W – Projektionen, die als weitgehend homolog zu den parvo-, magno- und koniozellulären Projektionspfaden bei Primaten betrachtet werden (Burke et al., 1998; Payne & Peters, 2001; Vidyasagar et al., 2002). Die retinofugalen Projektionen des primären visuellen Pfades treten ventral über den *Tractus opticus* in die Schichten A, A1 und C des *Corpus geniculatum laterale* der Katze ein, wobei Schicht C sich in weitere Untereinheiten (Cm, Cp) gliedert. Medial angrenzend befindet sich außerdem der *Nucleus Medialis Interlaminaris* (MIN) (Abbildung 3), der eine Besonderheit des Carnivoren-Gehirns darstellt. Die Axone der X-Ganglienzellen projizieren auf die für das Farbsehen und die Objekterkennung zuständigen parvozellulären Schichten A und A1, besitzen relativ kleine rezeptive Felder und werden im Kortex hauptsächlich in das visuelle Area 17 auf den ventralen Pfad verschaltet. Die Axone der Y-Ganglienzellen projizieren auf die für niedrigen Kontrast sowie schnelle Bewegungs- und Richtungserkennung zuständigen, makrozellulären Relaiszellen der Schichten A1, C und MIN und werden später im Kortex über Area 18 auf den dorsalen Pfad verschaltet (Hollaänder & Vanegas, 1977). Diese retinalen Ganglienzellen und die zugehörigen thalamischen Relaiszellen besitzen relativ große rezeptive Felder (Kandel et al., 2000; Payne & Peters, 2001). Die Axone des W-Pfades setzen sich aus mehreren Typen von Ganglienzellen mit eher diffusem Antwortverhalten zusammen (Payne & Peters, 2001). Im CGL der rechten Hemisphäre bildet Schicht A den Eingang für Signale der nasalen Seite des linken, kontralateralen Auges und Schicht A1 den Eingang der lateralen Seite des rechten, ipsilateralen Auges. In den Schichten des CGL werden dabei Breitengrade ( $e$ ) aufsteigend entlang der rostrocaudalen Achse und Höhengrade aufsteigend entlang der medialateralen Achse projiziert. Die dabei entlang der Projektionspfade erhalten bleibende, topographische Nachbarschaftsbeziehung kontralateraler, retinaler rezeptiver Felder im CGL, sowie im weiteren Verlauf in allen Arealen des visuellen Kortex, bezeichnet man als Retinotopie (C. D. Gilbert & Kelly, 1975; Shatz, 1977; Palmer et al., 1978; Tusa et al., 1978; Tusa et al., 1979a; Payne & Peters, 2001).



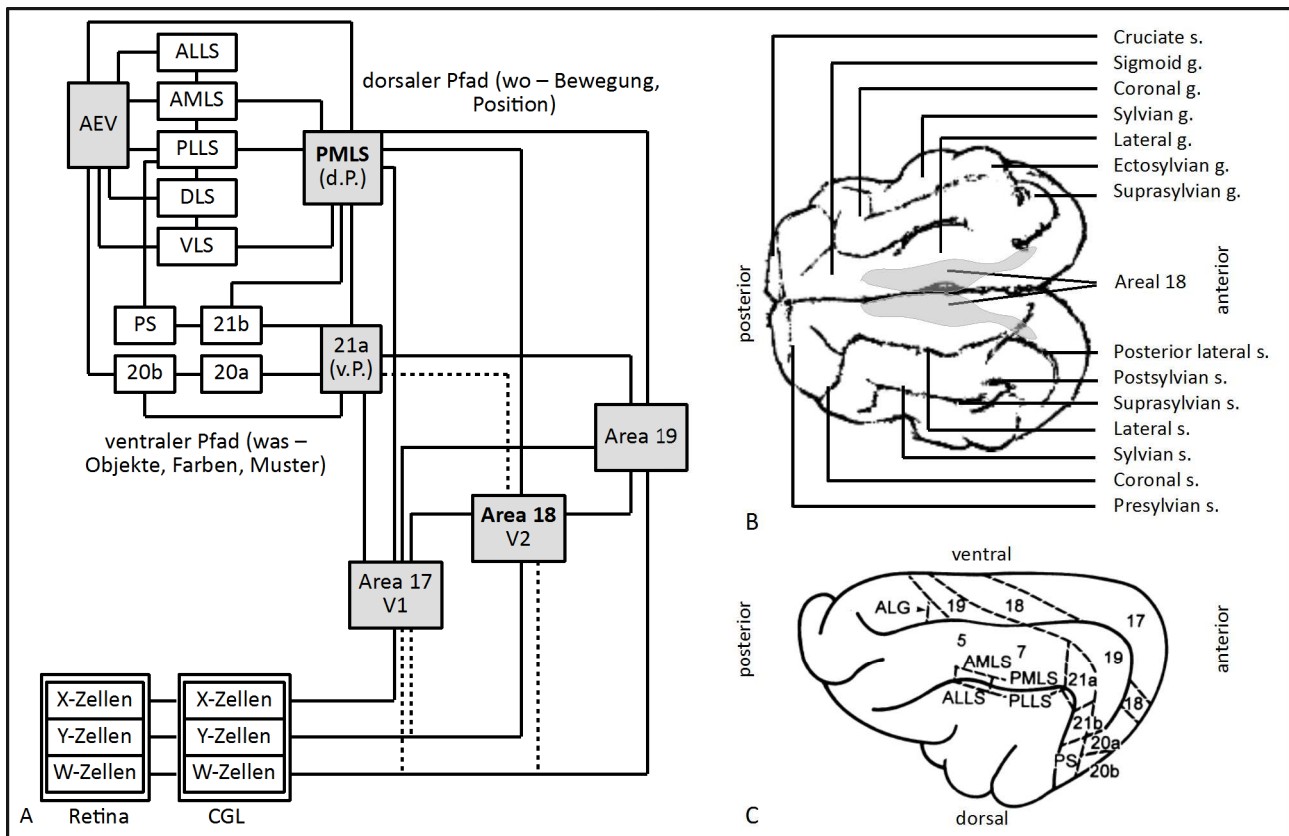
**Abbildung 3:** Schematische Übersicht der Projektion räumlicher Informationen über das *Corpus Geniculare Laterale* (CGL) ausgehend vom linken Gesichtsfeld in die rechte Hemisphäre. Die Verteilung der rezeptiven Felder des Gesichtsfeldes werden als sphärisches Koordinatensystem in Breitengrade (Elevation = e) und Höhengrade (Azimut = a) angegeben, wobei das zentrale Gesichtsfeld (Fovea) den Koordinatenursprung darstellt. Indem Breitengrade aufsteigend entlang der rostrocaudalen Achse und Höhengrade entlang der medial-lateralen Achse projiziert werden, bleibt diese Nachbarschaftsbeziehung sowohl in den Schichten des CGL, als auch nach der Aufteilung und Weiterleitung der Projektionspfade in die Eingangsareale des visuellen Kortex erhalten (Abb. A,B, modifiziert nach Payne & Peters, 2001). L = links, R = rechts, LT/RT = links/rechts oben, LB/RT = links/rechts unten, LE/RE = linkes/rechtes Auge, NO = *Nervus Opticus*, CO = *Chiasma Opticum*, TO = *Tractus Opticus*, RO = *Radiatio Optica*, MIN = *Nucleus Medialis Interlaminaris*, pc = *projection column*, Cm/p = magnozellanäre / parvozelluläre Untereinheit.

Über die *Radiatio optica* (RO) projizieren die Relaiszellen der magno- und parvozellulären Schichten des CGL in die Areale des visuellen Kortex im Okzipitallappen. Betrachtet man eine vereinfachte Übersicht des visuellen Kortex in lateraler und koronarer Ansicht der exponierten Gehirnwindungen (Gyrus) (Abbildung 3, A, B), dann wird das obere Gesichtsfeld (LT, RT, +e) hauptsächlich im ventralen und das untere Gesichtsfeld (LB, RB, -e) im medialen Teil der Kortexoberfläche des Okzipitallappens abgebildet, wobei das linke und rechte Gesichtsfeld auf die jeweils contralaterale Hemisphäre projiziert. Die retinotopische Organisation verläuft

unterhalb der Horizontallinie aufsteigend in rostro-caudale und von der Vertikallinie aus für jede Hemisphäre aufsteigend in mediallaterale Richtung (Talbot & Marshall, 1941; Payne & Peters, 2001). Im Fall der Katze liegen in diesen Bereichen die exponierten Anteile der primären visuellen Kortexareale 17 (V1, *Area striata*) und 18 (V2, *Area occipitalis*) (Tusa et al., 1978; Tusa, Rosenquist, & Palmer, 1979b).

### **4.3 Das visuelle System der Katze**

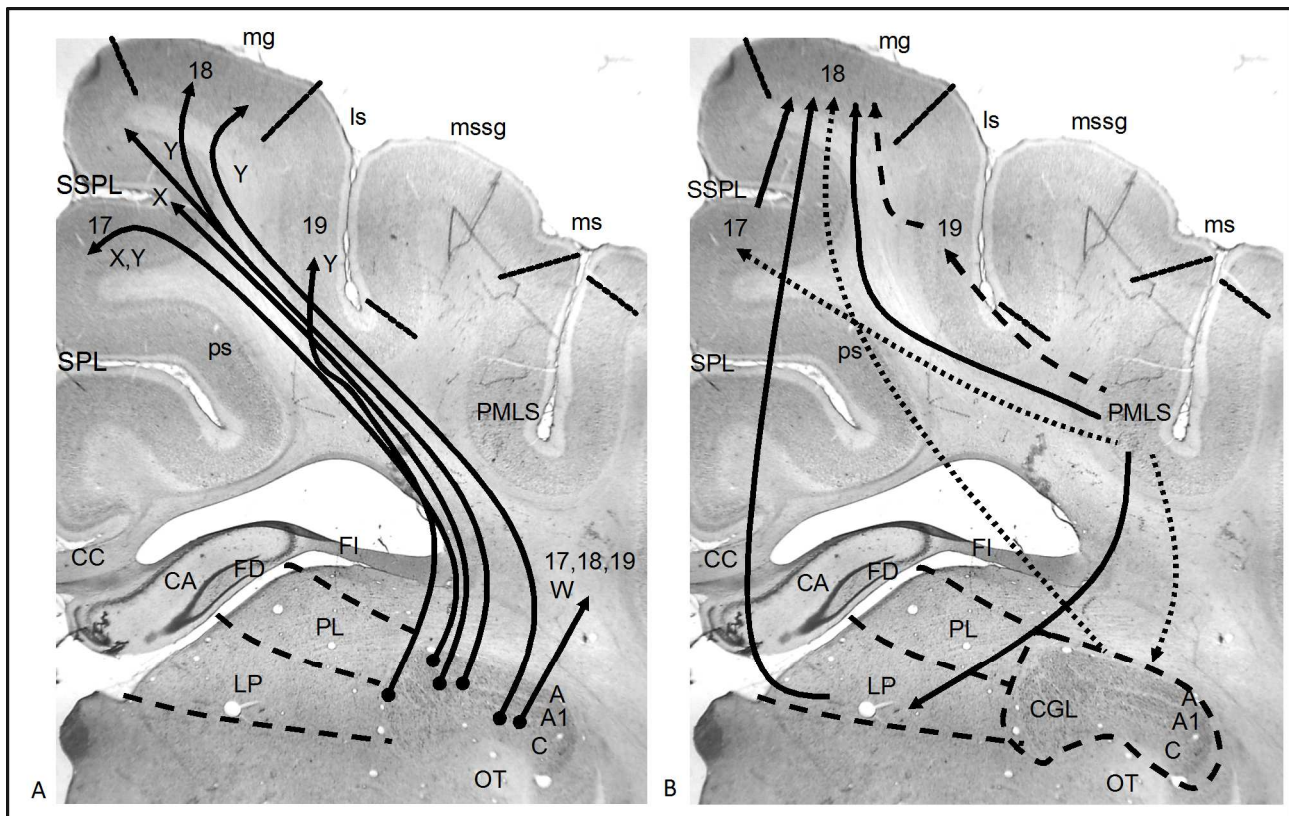
Die auf Grund direkter Innervation durch das CGL als primärer visuelle Kortex bezeichnete Eingangsstufe des visuellen Systems der Katze umfasst die histologisch abgrenzbaren und physiologisch unterscheidbaren Areale 17 und 18, die oft mit der primären und sekundären Sehrinde V1 und V2 im Primaten verglichen werden, aber im Detail dennoch Unterschiede aufweisen (Brodmann, 1903; Singer & Mitzdorf, 1978; Felleman & Van Essen, 1991; Payne & Peters, 2001). Die parallel verlaufenden X -, Y - und W - Projektionen der Retina teilen sich in zwei Verarbeitungspfade auf, den ventralen, farb- und objektspezifischen Pfad und den dorsalen orts- und bewegungsspezifischen Pfad (Abbildung 4), woraus sich eine Spezialisierung höheren Areale auf bestimmte Stimulationsmuster des annähernd hierarchisch aufgebauten visuellen Systems ergibt (L. G. Ungerleider et al., 1982; Goodale & Milner, 1992; Young, 1992; Burke et al., 1998). Area 17 (V1, *Area striata*) wird als erste Eingangsstufe visuellen Systems der Katze betrachtet, da die meisten extrastriären kortikalen Areale von dessen Aktivierung abhängig sind (Salin & Bullier, 1995; Callaway, 2004) und es von einem Großteil der X – aber auch Y - Projektionen innerviert wird, wodurch sowohl die Verarbeitung von Form- und Struktur- als auch Bewegungsinformationen in Area 17 feststellbar ist (Felleman & Van Essen, 1991) (Stone & Dreher, 1973; Dreher et al., 1980; Benevento & Standage, 1982; Pasternak et al., 1995; Burke et al., 1998; Callaway, 2004). Die Eingangsstufe des ventralen Pfades wird über das hierarchisch höhere Areal 21a definiert, da dieses von einem signifikanten, exzitatorischen Anteil der X - Projektionen aus Area 17 innerviert wird (Dreher, 1986; Mizobe et al., 1988; Dreher et al., 1993). Der Hauptteil der Y - Projektionen verläuft über Area 18 (V2, *Area occipitalis*) in den *posteromedialen Sulkus* (pMS – Kortex), der als Eingangsstufe des dorsalen Pfades betrachtet wird (Dreher et al., 1996; Lomber et al., 1996; Burke et al., 1998; Lomber, 2001). Areal 19 (V3, *Area praeoccipitalis*) dient als Eingangsstufe der W – Projektionen. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt auf der Untersuchung der Informationsverarbeitung zwischen Area 18 und dem *Posteromedialen Lateralen Suprasylvischen Sulkus* (PMLS), zwischen denen insbesondere die Verarbeitung von Bewegungs- und Orientierungsinformationen stattfindet.



**Abbildung 4:** A) Schematische Darstellung der hierarchischen Verschaltung visueller Areale der Katze. Ausgehend von der Retina erfolgt die Projektion des Informationsflusses entlang dreier paralleler, getrennter visueller Pfade (X,Y,W), die im das CGL auf Area 17, Area 18 und Area 19 verschaltet werden. Die Verarbeitung in den höheren Arealen erfolgt über den ventralen (objektspezifisch) oder den dorsalen Pfad (ort- und bewegungsspezifisch). Bei der Katze ist die Eingangsstufe für den ventralen Pfad Area 21 a und die Eingangsstufe für den dorsalen Pfad der PMLS Kortex (modifiziert nach Burke et al., 1998). B) Ventrale Ansicht der Gehirnwindungen und kortikale Ausbreitung des Area 18 Gyrus. C) Laterale Ansicht der Verteilung visueller Areale und Lage des *Posteromediale Laterale Suprasylvische Sulkus* (PMLS) (Payne & Peters, 2001). Beschriftung nach Payne & Peters, 2001, Reinoso-Suárez, 1961.

#### 4.4 Innervationen und Integration

Anatomische Studien der letzten Jahrzehnte haben ein komplexes System weitverzweigter kortikaler, subkortikaler und intrinsischer Netzwerke aus anterograden und retrograden Innervationen offengelegt, die aus Arealen, deren Schichten und aus Gruppen funktionell organisierter Neuronen bestehen (Felleman & Van Essen, 1991; Callaway, 2004). All diese Projektions- und Kommunikationswege können exzitatorische, inhibitorische oder modulatorische Funktionen unterschiedlichster Art auf den gesamten intrinsischen und interarealen Informationsfluss ausbilden (J H Maunsell & van Essen, 1983; Felleman & Van Essen, 1991; Shepherd, 2003; Callaway, 2004). Eine Übersicht der für das Verständnis dieser Arbeit wichtigsten thalamischen und kortikokortikalen Projektionen ist in Abbildung 5 dargestellt.

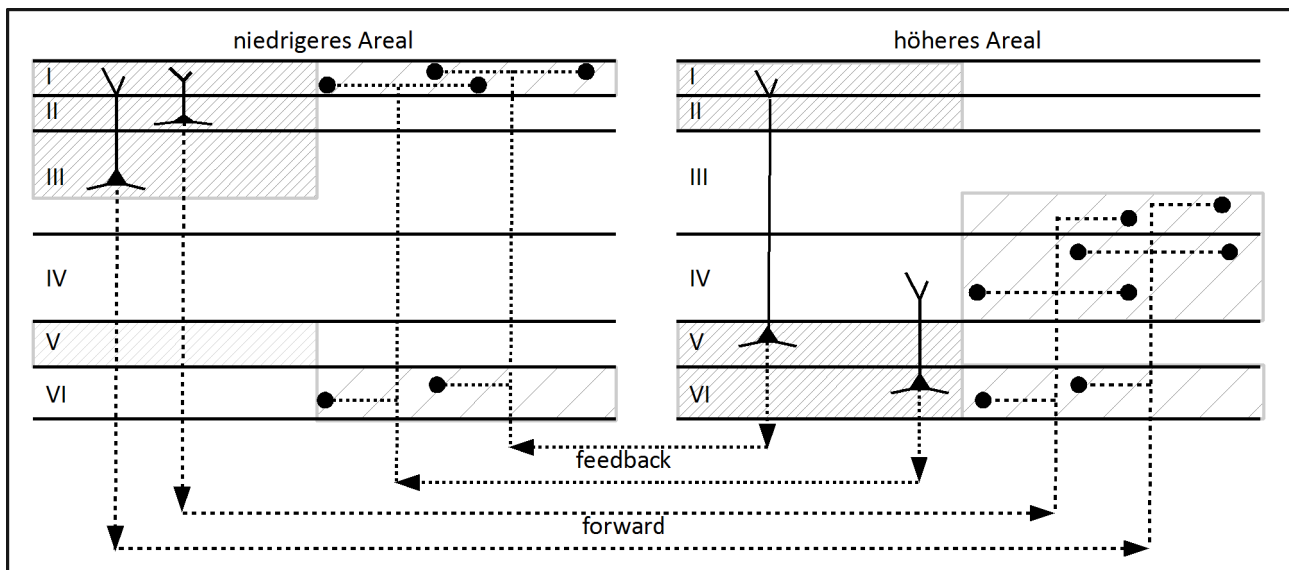


**Abbildung 5:** Zusammenfassung der Innervationen der visuellen Areale 17, 18, und 19 ausgehend vom CGL, anterolaterale Ansicht eines koronaren Gewebeschnittes. Die retinofugalen Projektionen treten ventral über den optischen Trakt (OT) in den CGL ein. A) Innervationen von Area 17, 18 und 19 ausgehend von den Substrukturen des CGL (A, A1, C) der Katze mit den jeweiligen visuellen, funktionell getrennten Pfaden (X, Y, W). Die für Farbe und Form kodierenden X-Zellen projizieren ausgehend vom CGL in Area 17, die bewegungssensitiven Y-Zellen projizieren ausgehend vom CGL hauptsächlich in Area 18. B) Darstellung der kortikokortikalen und thalamokortikalen feedback-Projektionen aus dem MS-Kortex der Katze nach Area 18. Direkte Verbindungen zwischen MS und Area 18 und indirekte über Area 17, Area 19, sowie über das CGL und den pulvinaren Kern (LP) des visuellen Thalamus. Die Linienart der Pfeile (durchgängig = hoch, gestrichelt = mittel, punktiert = niedrig) repräsentiert die relative Anzahl der Rückprojektionen. Gewebeschnitt Experiment 092413. Areale und Verbindungen identifiziert und reproduziert nach (Payne & Peters, 2001). Beschriftung nach Payne & Peters, 2001, Reinoso-Suárez, 1961.

Das kortikale, intrinsische Schichtsystem dient, neben der eigentlichen, arealspezifischen Informationsverarbeitung, als Ein- und Ausgangsbereich von Projektionspfaden. Etwa 15% der synaptischen Terminalen im primären visuellen Kortex stammen z.B. aus retinofugalen Verbindungen, während kortikofugale Projektionen aus dem visuellen Kortex zurück in den Thalamus und das CGL, sowie direkte intrakortikale Verbindungen einen Anteil von bis zu 50% (Payne & Peters, 2001) erreichen können und somit kortikofugale, thalamische und kortikokortikale Interaktionen einen nicht unerheblichen Einfluss auf alle Ebenen der visuellen Informationsverarbeitung nehmen können (C. D. Gilbert & Kelly, 1975; Payne & Peters, 2001; Galuske et al., 2002; Callaway, 2004; C. Wang et al., 2006; Charles D. Gilbert & Li, 2013). Bei wechselseitiger Kommunikation zwischen hierarchisch niedrigeren zu höheren Arealen (Abbildung 6) spricht



man anatomisch betrachtet von „feedforward“ und im Fall von höheren auf niedrigere Areale von „feedback“ Kommunikation (Rockland & Pandya, 1979; Felleman & Van Essen, 1991).



**Abbildung 6:** Interareale Kommunikation in Form von Feedforward-Verbindungen geht meist von Pyramidenzellen in Kortexschichten I - III und Feedback-Verbindungen von den tieferen Schichten V - VI aus. Die Schichten III - IV dienen oft als Eingangsschichten der Feedforward-Verbindungen, können aber auch Pyramidenzellen enthalten, die thalamische oder claustrale Innervationen ausbilden. Feedback-Eingänge sind sowohl in äußeren als auch in tiefen Schichten zu finden.

Der sensorisch bedingte Informationsfluss wird dabei als „bottom-up“ Prozess bezeichnet, wenn es um die kognitive Verarbeitung von Reizmerkmalen geht, während Einflüsse interner Informationen auf die Wahrnehmung in Form von Modulationen der neuronalen Aktivität, als „top-down“ bezeichnet werden. Zahlreiche anatomische und physiologische Befunde konnten nachweisen, dass interkortikale Verbindungen oft reziproker Natur sind und von Pyramidenzellen ausgehen, deren Apikaldentriten sich über mehrere Schichten eines Kortexareals spannen können. Pyramidenzellen, Interneurone, sowie Horizontal- und Sternzellen eines solchen Schichtsystems bilden dabei funktionelle Netzwerke von Aktivierungssequenzen und Zellmodulen aus (C. D. Gilbert & Kelly, 1975; Symonds & Rosenquist, 1984; Payne & Peters, 2001). Die Funktionsweise interarealer und intraarealer Netzwerke, und damit die Integration des sensorischen oder internen Informationsflusses, hängt von der Balance zwischen exzitatorischen und inhibitorischen, synaptischen Neurotransmittersystemen ab (Lehmann, 2012). Exzitatorischer Input, beispielsweise im visuellen Kortex, wird von Sternzellen, interkortikalen sowie intrinsischen Pyramidenzellen oder thalamischen Projektionen über den Neurotransmitter Glutamat auf apikal- oder basaldendritische Zellkompartimente der kortikalen Pyramidenzellen vermittelt. Inhibitorischer Input wird von intrinsischen Interneuronen über Neurotransmitter der Gruppe der Gamma-Aminobuttersäuren (GABA) auf das Soma,

sowie proximale und distale Dendriten der kortikalen Pyramidenzellen vermittelt (Shepherd, 2003). Die Summe der inhibitorischen und exzitatorischen Übertragung bestimmt die Membranspannung der neuronalen Zielzelle in Form von EPSPs (Exzitatorische Postsynaptische Potentiale - depolarisierend) und IPSPs (Inhibitorische Postsynaptische Potentiale – hyperpolarisierend). Von diesen und ähnlichen physiologischen Mechanismen abhängige Spannungsänderungen generieren neuronale Oszillationen unterschiedlicher Frequenz und Funktion, welche die Basis der Gesamtkommunikation bilden.

#### **4.5 Neuronale Oszillationen**

Neuronale Oszillationen zeichnen sich durch rhythmische oder repetitive neuronale Aktivität im zentralen Nervensystem aus und können unterschiedlichen Ursprungs sein. Einzelne Neuronen können neuronale Oszillationen sowohl durch Änderungen ihres eigenen Membranpotentials generieren oder durch Aktionspotentiale in Form rhythmischer Entladungen in ein postsynaptisches Netzwerk induzieren. Aktionspotentiale sind in extrazellulären Ableitungen lokalisierte hochfrequente Signale mit einem sehr schnellen, instantanen Energieanstieg im Signalverlauf, weswegen im englischsprachigen Raum für Aktionspotentiale oft die Bezeichnung „Spike“ verwendet wird. Außerdem entstehen neuronale Oszillationen als Phänomen neuronaler Zellverbände selbst, wobei Einzelzellen des Verbandes keine rhythmischen Entladung generieren, sondern die Oszillation durch reziproke synaptische Aktivierung über Änderungen des Membranspannung synchronisiert wird. In beiden Fällen kommt es zu Synchronisationen oder auch Desynchronisationen der Feuerraten von Aktionspotentialen und damit den von prä- und postsynaptischer Aktivität abhängigen Potentialschwankungen in lokalen Populationen bis hin zu ganzen Arealen in Form von „Travelling Waves“ (Sato et al., 2012; Alexander et al., 2015; Omer et al., 2018). Die Frequenz der resultierenden oszillatorischen Aktivität ist dabei das Produkt der synaptischen Verbindungen innerhalb der Gesamtpopulation und nicht der Feuerraten der Einzelzellen (Leung, 1990). In diesem Zusammenhang wurden außerdem die Begriffe „Up-State“ (eher depolarisiert) und „Down-State“ (eher hyperpolarisiert) eingeführt, die Schwankungen zwischen zwei Membranpotentialen kurz unterhalb des Schwellenwertes zur Auslösung von Aktionspotentialen beschreiben und u.a. in Verbindung mit Synchronisationsmechanismen durch langsame Oszillationen und spontaner Aktivierungszustände des Kortex betrachtet werden (Holcman & Tsodyks, 2006; Wilson, 2010). Neuronale Oszillationen werden in Form von Spannungsänderung der Zellmembran oder als extrazelluläre, postsynaptische Feldpotentiale der EPSP- und IPSP-Komponenten gemessen. Bei elektroenzephalographischen Ableitungen (EEG) werden eher globale Potentialdifferenzen auf der Schädeloberfläche abgeleitet. Ableitungen mit implantierten Elektroden repräsentieren dagegen eher lokale exzitatorische und inhibitorische (EPSP, IPSP) synaptische Prozesse und werden als „local field potentials“ (LFP) bezeichnet, wenn die Ableitung in tieferen

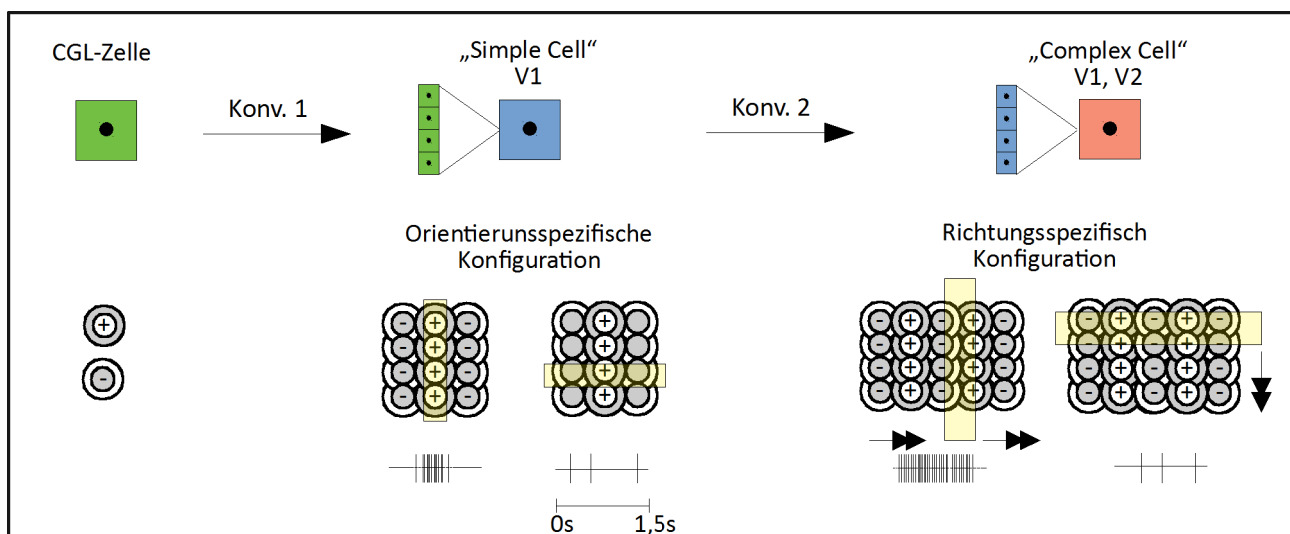


Schichten stattfindet und als Elektrokortikogram (ECoG), wenn subdural auf der Kortexoberfläche aufgebrachte Elektroden verwendet werden. Frequenzänderungen im Signalverlauf stellen dabei Aktivierungszustände des Gehirns („Brain-States“) dar, die mit dem neuronalen Informationsfluss sensorischer oder interner Verarbeitungs- und Transferphasen assoziiert werden. Die Einteilung neuronaler Oszillationen in Aktivierungszustände ermöglicht beispielsweise die Identifikation von Schlaf- oder Verhaltensphasen (Berger, 1929; Leung, 1990). Elektrophysiologische Ableitungen rhythmischer Signale in Phasen der Grundaktivität, sowie spontaner und evozierter Aktivitätszustände des Gehirns haben die Klassifikation neuronale Oszillationen in annähernd folgende Taxonomy ermöglicht: Delta- (0,5-3 Hz), Theta (4-7 Hz), Alpha- (8-14 Hz), Beta- (15-30 Hz) und Gammafrequenzen (31-90 Hz). Alphafrequenzen spiegeln den inaktiven Wachzustand bei geschlossenen Augen oder Grundzustände wider und wurden beim Menschen erstmals durch EEG-Ableitungen im entspannten Zustand ohne kognitive Aufgaben entdeckt (Berger, 1929). Delta- und Thetafrequenzen werden vor allem mit Schläfrigkeit und unterschiedlichen Schlafphasen in Verbindung gebracht, wobei Thetawellen auch während Aufmerksamkeits- und Lernprozessen in Langzeit-Potenzierung (LTP) auftreten. Beta - und Gammaband werden mit perzeptiven und kognitiven Prozessen assoziiert. Im Gegensatz zu Aktionspotentialen einzelner Neurone stellen Feldpotentiale, durch die konduktiven Eigenschaften des Gehirns, die Aktivität neuronaler Populationen dar. Feldpotentiale werden oft in der Analyse globaler „Brain-States“ verwendet, wie in der Schlaf-, Verhaltes- und Epilepsieforschung (Leung, 1990).

#### **4.6 Organisation rezeptiver Felder**

Das rezeptive Feld einer Zelle oder Zellgruppen wird von Exzitations- und Inhibitionsmechanismen des umgebenden Netzwerks bestimmt. Mit vertikal in Areale des Neokortex von Säugetieren eingelassenen Ableitelektroden konnte nachgewiesen werden, dass neuronale Zellverbände über mehrere Schichten eines Areals Säulenstrukturen (Kolumnen) ausbilden, die unterschiedliche sensorische Modalitäten aufweisen und selektiv auf Kombinationen von sensorischen Inputs reagieren. Solche Kolumnen sind morphologisch oft ähnlich aufgebaut und weisen eine Vielzahl von Afferenzen sowie eine laterale und vertikale intrinsische Vernetzung auf (Mountcastle, 1957, 1997; Hubel & Wiesel, 1962, 1969, 1974; Shmuel & Grinvald, 1996). Um die funktionellen Überlappungen aus Funktionseinheiten solcher Netzwerke zu beschreiben wird in diesem Zusammenhang oft auch der Begriff „Module“ verwendet. Sowohl die intrinsische als auch die interareale funktionelle Konfiguration neuronaler Netzwerke und Module kann sich langfristig auf Grund synaptischer Plastizität in Form von Segregations- und Integrationsmechanismen ändern, wobei die Kodierung und Verarbeitung von Information im Gehirn als Phänomen der Netzwerkaktivität betrachtet wird (J. R. Cohen & Esposito, 2016; Galuske, Munk, & Singer, 2019). Areale des visuellen Kortex zeichnen

sich hierbei durch eine spezifische Modularität aus Kolumnen aus, die Reizmuster wie Objektorientierung, Richtungs-, Geschwindigkeits- und Farbinformation verarbeiten (Hubel & Wiesel, 1962; Bonhoeffer & Grinvald, 1991). Die Orientierungs- oder Richtungsspezifität einer Kolumne hat hierbei ihren Ursprung in der Verschaltung der Projektionen rezeptiver Felder des CGL. Es sei an dieser Stellen erwähnt, dass die retinotopische Organisation der rezeptiven Felder in den jeweiligen tieferen Kortexschichten der visuellen Areal ebenfalls erhalten bleibt und die Zentren der rezeptiven Felder eine gemeinsame vertikale Ausrichtung aufweisen, jedoch in Abhängigkeit der Schichttiefe in ihrer Größe variieren können und Überlappungen möglich sind (Charles D. Gilbert, 1977; Payne & Berman, 1983; Payne & Peters, 2001).

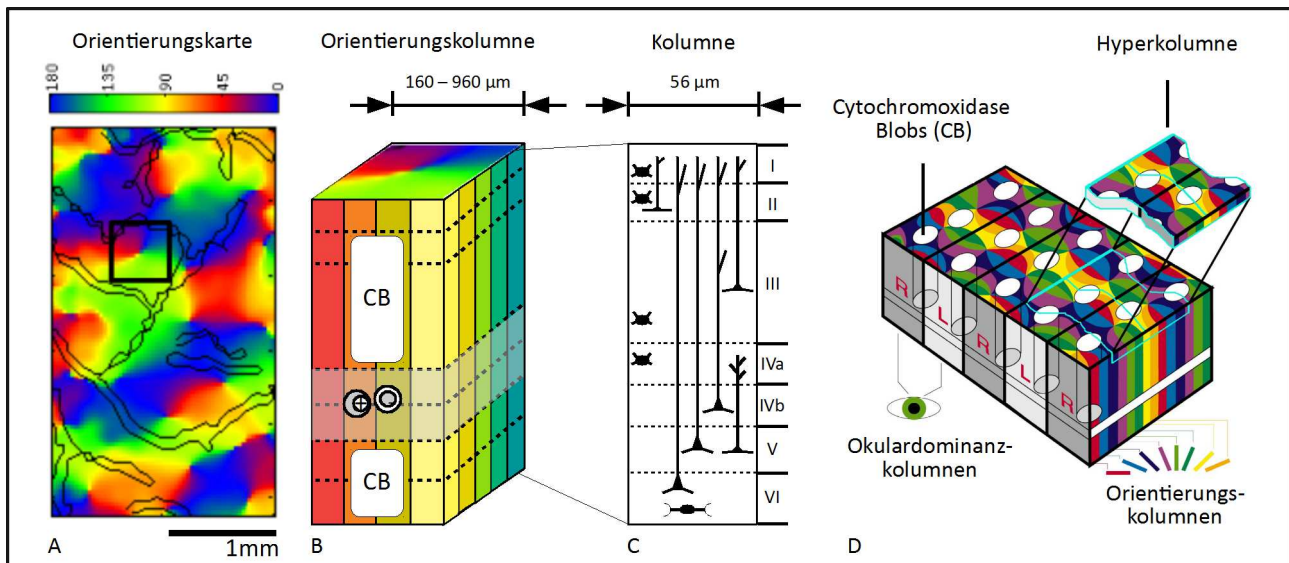


**Abbildung 7:** Es wird angenommen, dass die Orientierungs- und Richtungsspezifität von Neuronen auf der schrittweisen Konvergenz von konzentrischen rezeptiven Feldern beruht, wobei die Spezifität in Form des Antwortverhaltens aus einer räumlichen On/Off-Konfiguration der Verschaltung hervorgeht (reproduziert und modifiziert nach (Hubel & Wiesel, 1962; Kandel et al., 2000)).

#### 4.7 Area occipitalis

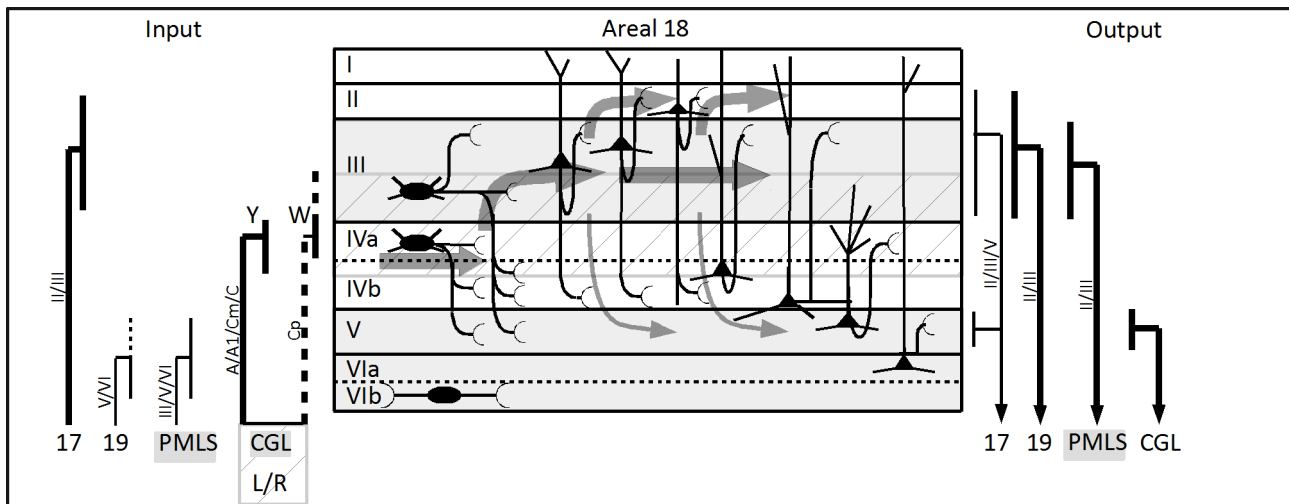
Area 18 (V2, *Area occipitalis*) befindet sich lateral zu Area 17 (V1, *Area striata*) als Teil der Konvexität des *marginal gyrus* (mg, Abbildung 4, Abbildung 5) und breitet sich weiter in den *Sulcus postlateralis* aus (Otsuka et al., 1962). Area 17 und 18 werden morphologisch in sechs Schichten unterteilt, wobei Area 18 eine auffällig breite Schicht III aufweist (Otsuka et al., 1962; Payne & Peters, 2001). Histologische und funktionelle Studien zur vertikalen und lateralen Vernetzung in Area 17 und 18 konnten nachweisen, dass Kolumnen dieser Areale auf Bewegungs- oder Orientierungsreize reagieren (Hubel & Wiesel, 1962; Payne, Berman, & Murphy, 1981; Grinvald et al., 1986; Hegetschweiler et al., 1993; Peters & Yilmaz, 1993; Payne & Peters, 2001; M. Niessing et al., 2003). Benachbarte Kolumnen orientierungsspezifischer Zellen verändern in linearer Abhängigkeit von 1-2 mm Schritten bzw. 10° Sehwinkel kontinuierlich ihre Orientierungspräferenz

(Payne & Peters, 2001). Eine Hyperkolumne weist einen vollen Zyklus zwischen  $0^\circ$  -  $180^\circ$  Orientierungspräferenz um eine zentrale Singularität auf. Auf Basis elektrophysiologischer Ableitungen wurde der Durchmesser solcher Hyperkolumnen zunächst zwischen 160 – 960  $\mu\text{m}$  definiert (Hubel & Wiesel, 1977; Payne & Peters, 2001). Wie in Kapitel 4.2 bereits beschrieben, repräsentiert der Bereich des *marginal gyrus* von Area 18 überwiegend den unteren, zentralen Bereich des Gesichtsfeldes. Da jede Hemisphäre des visuellen Kortex Informationen aus beiden Augen erhält, bilden die kolumnäre Strukturen i.d.R. alternierende Zonen, die zwischen ipsi- und kontralateraler Okulardominanz wechseln, wobei diese strikte Anordnung speziell bei Katzen nur in Schicht IV zu finden ist (Abbildung 8D). Am deutlichsten tritt die Okulardominanz in den rezeptiven Feldern der durch das CGL direkt innervierten Neuronen von Schicht IV in Area 17 und Area 18 auf (Payne & Peters, 2001). Hyperkolumnen enthalten außerdem für das Farbsehen zuständige Bereiche, die in Form von Cytochromoxidase – Blobs nachweisbar sind (Hubel & Wiesel, 1968; Shoham & Bonhoeffer, 1997; Grinvald et al., 1999; Kandel et al., 2000; Payne & Peters, 2001). Abbildung 8, A zeigt in diesem Zusammenhang eine so genannte Orientierungskarte, berechnet aus optischen Aufnahmen neuronaler Aktivität der oberen Kortexschichten eines Ausschnittes von Area 18, deren Erstellung in Kapitel 6.6 erläutert wird. Durch die räumliche Organisation der Orientierungskolumnen entstehen Singularitäten (Abbildung 8, A, Rechteck), die sich durch einen diskontinuierlichen Wechsel der Orientierungsspezifität auszeichnen (Albus, 1975; Payne & Peters, 2001). Weitere Strukturen, wie u.a. in (Swindale, 2000) zusammenfassend beschrieben, sind in dieser Darstellung nicht abgebildet. Dazu zählen z.B. die Richtungspräferenzen für bewegte Stimulationsmuster, die meist orthogonal zu den Orientierungspräferenzen stehen, wobei jede Orientierungskolumne zusätzlich in zwei Richtungskolumnen mit gegenläufiger Richtung untergliedert ist (Hubel & Wiesel, 1962; Swindale et al., 1987; Shmuel & Grinvald, 1996; Katz & Crowley, 2002).



**Abbildung 8:** A) in Falschfarben dargestellte Orientierungspräferenzkarte einer 2 x 3,5 mm großen Kortexfläche von Area 18 mit Singularität. B) Dreidimensionale Organisation von Orientierungskolumnen unterhalb der markierten Fläche und Lage der für das Farbsehen zuständigen Cytochromoxidase Blobs (CB). Die Orientierungspräferenz bleibt vertikal über alle Schichten jedes Moduls außer in Schicht IV (grau) erhalten. (adaptiert aus Kandel et al., 2000). C) Schematische Darstellung der Ursprünge von Dendriten und Axonen von Pyramidenzellen (▲), Stern- und Horizontalzellen (•) einer einzelnen Kolumne. Apikaldendriten der Pyramidenzellen aus Schicht III/V werden in Schicht I gebündelt (adaptiert aus Peters & Yilmaz, 1993; Payne & Peters, 2001). D) Funktionelle Organisation in Hyperkolumnen, bestehend aus Okulardominanzkolumnen des linken und rechten Auges (Modifiziert aus Grinvald et al., 1999).

Die zentrale intrinsische Struktur einer Kolumne besteht dabei meist aus Pyramidenzellen, deren Zellkörper in den tieferen Schichten rekurrent und horizontal verzweigte Axone ausbildet und deren Apikaldendrit bis in Schicht I aufsteigt. Schicht IV besteht aus großen, weit verteilten Körnerzellen, die über intrinsische Verbindungen nach der Aktivierung durch die Y-Pfade insbesondere in die für Area 18 charakteristisch breite Schicht III projizieren, welche sich wiederum aus mittelgroßen Pyramidenzellen zusammensetzt. Weitere Projektionen werden in Schicht V weitergeleitet die aus wenigen großen und mittelgroßen Pyramidenzellen aufgebaut ist und sich durch ihre geringe Zelldichte von der tief in Area 18 liegenden Schicht VI abgrenzt, welche aus vielen kleinen Horizontal- und Korbzellen besteht (Otsuka et al., 1962; Sandies & Hoffmann, 1969; Payne & Peters, 2001). Kortikokortikale Verbindungen gehen überwiegend aus den supragranulären Schichten II/III aus, thalamofugale Verbindungen und Rückprojektionen in das CGL sind in den unteren, infragranulären Schichten V/VI zu finden (Symonds & Rosenquist, 1984).

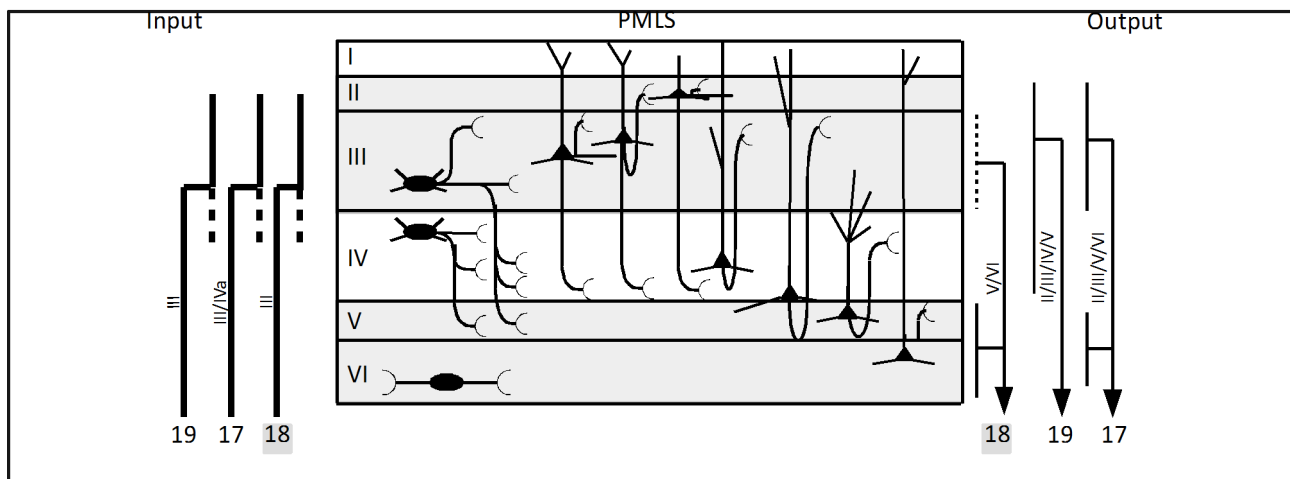


**Abbildung 9:** Diagramm ausgewählter ein- und ausgehender Verbindungen in Area 18 und intrinsische Aktivierungssequenz (graue Pfeile) der Schichten ausgehend von den Innervationen der Y-Fasern aus dem CGL in Schicht IVa und der obere Schicht IVb. Feedforward - dicke Linien, Feedback - dünne Linien. Schichtspezifische, signifikant geringere Anteile an Innervationen sind durch gestrichelte Linien markiert. Inputverbindungen mit angegebener Ursprungsschicht, Outputverbindungen mit angegebener Zielschicht. Zellen im unteren Teil von Schicht III und in Schicht IVa weisen meist eine sternförmig dendritische Morphologie auf (•). Alle Schichten werden durch mittel bis stark verzweigte Pyramidalzellen (▲) mit aufsteigenden Apikaldentriten bis in die obersten Schichten durchzogen. Feedback-Projektionen aus PMLS sind überwiegend in Schicht V/VI zu finden. Feedforward-Projektionen zum PMLS befinden sich in Schicht III. Zusammenfassung nach Symonds & Rosenquist, 1984; Payne et al., 1991; Payne & Peters, 2001.

#### 4.8 Posteromedialer lateraler suprasylvischer Kortex

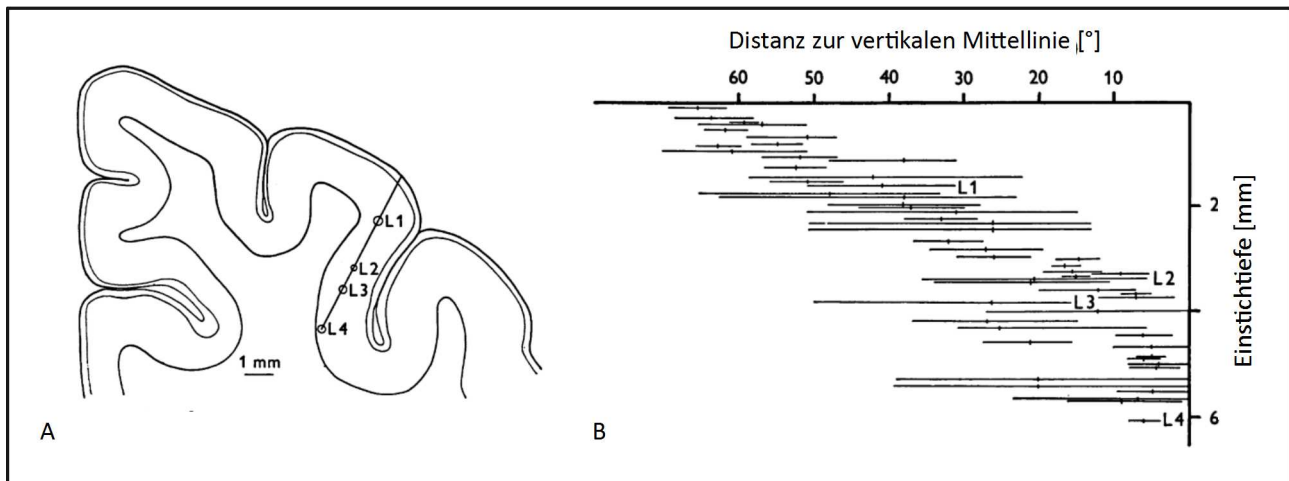
Der Posteromediale Laterale Suprasylvische Sulkus (PMLS) ist Teil des visuellen MS-Kortex Katze und wird als homologes Areal zum mediotemporalen Kortex (MT - V5) von Primaten betrachtet (Otsuka et al., 1962). PMLS erhält sowohl retinothalamische Projektionen, die ihren Ursprung in MIN und C des CGL haben, als auch reziproke kortikokortigale Projektionen aus den Arealen 17, 18 und 19, sowie den Arealen 20/21 und dem übrigen MS-Kortex (Sprague et al., 1977; Rosenquist, 1985; Spear, 1985; Kalil et al., 1991). Schicht I des PMLS enthält nur wenige Neuronen und setzt sich überwiegend aus Gliazellen zusammen. Schicht II enthält eine hohe Dichte aus Korbzellen mit kleineren neuronalen Zellkörper. Die Grenze zwischen Schicht II und III erscheint fließend und deutet sich morphologisch durch größer werdende Zellkörper bis zu den Ursprüngen mittelgroßer Pyramidenzellen im unteren Abschnitt von Schicht III an. Schicht IV zeichnet sich durch eine erhöhte, granuläre Zelldichte mit nur wenige Pyramidenzellen aus. Schicht V setzt sich aus Pyramidenzellen mit großen Zellkörpern und weitreichenden Apikaldentriten zusammen. Die Abgrenzung zu Schicht VI erfolgt wiederum durch eine Zunahme der Zelldichte von Horizontalzellen in Schicht VI. Kortikokortikaler Verbindungen zwischen dem primären visuellen Kortex und PMLS in Form von ein- und ausgehenden Projektionen konnten in retrograden und anterograden Tracing-Studien überwiegend in Schicht II/III und V

nachgewiesen werden, wobei Anteile an Innervationen aus Area 17, 18 und 19 auch speziell im oberen Teil von Schicht IV zu finden sind (Bullier et al., 1984b; Symonds & Rosenquist, 1984; Lowenstein & Somogyi, 1991; Payne et al., 1991; Watts & Thomson, 2005). Verbindungen in Richtung Area 18 gehen dabei aus Schicht V und zu einem geringeren Anteil aus Schicht III des PMLS hervor, wohingegen Verbindungen aus Area 18 in Schicht III und der oberen Schicht IV von PMLS zu finden sind (Bullier et al., 1984a; Bullier et al., 1984b; Symonds & Rosenquist, 1984; Payne et al., 1991; Galuske et al., 2002; Jähner, 2013).



**Abbildung 10:** Diagramm ausgewählter ein- und ausgehender Verbindungen in PMLS. Feedforward - dicke Linien, Feedback - dünne Linien. Inputverbindungen mit angegebener Ursprungsschicht, Outputverbindungen mit angegebener Zielschicht. Schichtspezifische, signifikant geringere Anteile an Innervationen sind durch gestrichelte Linien markiert. Die intrinsische Organisation aus Pyramidalzellen (▲) folgt einem ähnlichen Schema, wie Area 18. Feedforward-Projektionen aus Area 18 sind überwiegend in Schicht III zu finden. Feedback-Projektionen nach Area 18 in Schicht III/V. Zusammenfassung nach Hubel & Wiesel, 1969; Symonds & Rosenquist, 1984; Lowenstein & Somogyi, 1991; Payne et al., 1991; Galuske et al., 2002; Watts & Thomson, 2005.

Mit tangential in den lateralen MS-Sulkus implantierten Elektroden konnten ab einer Tiefe von ca. 3 mm Neuronen mit Orientierungs- und Richtungspräferenzen nachgewiesen werden (Hubel & Wiesel, 1969; J. Zumbroich & Ox, 1987; Spear, 1991; Y. Wang et al., 1995; Dreher et al., 1996). Die präferierte Richtung dreht sich dabei beispielsweise graduell im oder gegen den Uhrzeigersinn in Abhängigkeit von der Einstichtiefe, woraus sich ein ebenfalls kolumnäre Organisationsstruktur des PMLS ableiten ließe (Blakemore & Zumbroich, 1987; Y. Wang et al., 1995). Die Retinotopie entlang der tangentialen Einstichsachse bleibt auch hier erhalten, wobei sich die rezeptiven Felder unterhalb des horizontalen Medians in das untere Gesichtsfeld zwischen ca. 30° bis ca. 40° azimuth der jeweils kontralateralen Peripherie ausdehnen und näher zum vertikalen Median der retinotopen Karte des gesamten Gesichtsfeldes liegen, je tiefer die Penetration (Hubel & Wiesel, 1969; Palmer et al., 1978; T. J. Zumbroich & Blakemore, 1986).

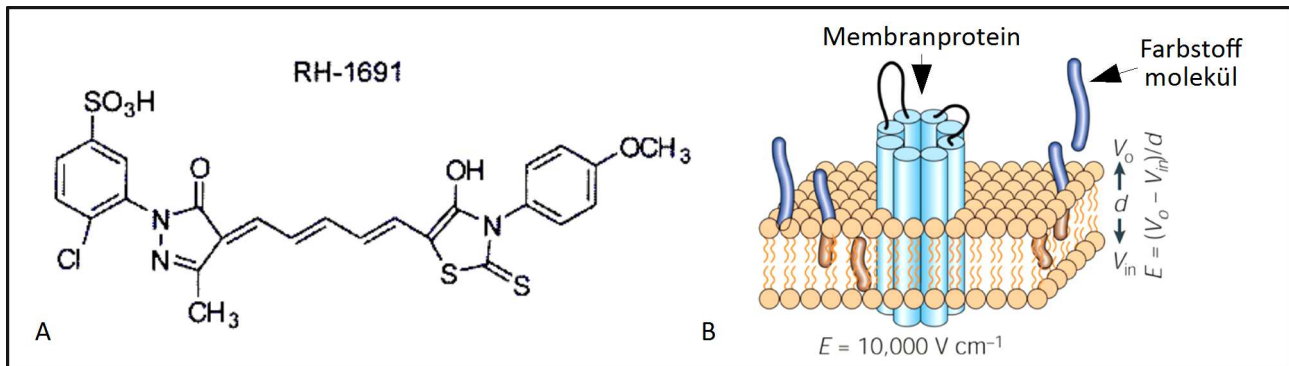


**Abbildung 11:** A) Rekonstruktion der Penetration des Lateralen Suprasylvischen Sulkus. Die Kreise repräsentieren vier Elektrodenläsionen entlang der Einstichrichtung. B) Horizontale Linien zeigen die mediolaterale Ausbreitung rezeptiver Felder. Kurze, vertikale Linien das geometrische Zentrum oder die Position mit maximaler Antwortstärke. Je tiefer die Penetration, desto näher liegen die rezeptiven Felder zur Mittellinie gesamten Gesichtsfeldes. Aus Hubel & Wiesel, 1969.

#### 4.9 Voltage Sensitive Dye Imaging

Konventionelle Aufnahmeverfahren, ob elektrophysiologisch oder bildgebend, ermöglichen entweder ein hohes räumliches oder zeitliches Auflösungsvermögen (Shoham et al., 1999). Bei räumlich hochauflösenden, jedoch zeitlich limitierten Techniken, werden oft durch neuronale Aktivität induzierte, metabolische Veränderungen gemessen. Unter diese Kategorie fallen beispielsweise NIRS („near infrared spectroscopy“), fMRI („functional magnetic resonance imaging“) oder OIIS („optical imaging of intrinsic signals“). Intra- und extrazelluläre Messverfahren der Elektrophysiologie sind i.d.R. zeitlich hoch aufgelöst, jedoch räumlich limitiert (Shoham et al., 1999). Verschiedene Verfahren werden daher oft kombiniert, wobei neue, technisch bedingte Limitationen auftreten, die sich nur mit sehr großem Aufwand überkommen lassen. Ein Beispiel ist die technisch hochkomplexe Kombination von fMRI mit elektrophysiologischen Aufnahmen (Logothetis et al., 2001). Des weiteren erhält man durch Erhöhung der Anzahl von Ableitelektroden eine höhere Auflösung, allerdings führt die damit winhergehende, zunehmende Invasivität zur Zerstörung intrinsischer Netzwerke. Alternativ können von Licht abhängige Absorptions- oder Emissionseffekte zur Messung neuronaler Aktivität eingesetzt werden, die eigenen Limitationen unterliegen, jedoch Aspekte der zeitlichen und räumlichen Auflösung vereinen können. Unter „Optical Imaging“ versteht man bildgebende Verfahren, die erstmals von (Hill & Keynes, 1949) bei der Beobachtung intrinsischer Signale in Form von veränderlichen Lichtstreuungen an aktiven Neuronen eingesetzt wurden. Das Ergebnis solcher Versuchsreihen sind Serien aus Einzelbildaufnahmen, im Folgenden

auch als optische Karten bezeichnet, deren Pixel Signalkanäle bilden, wodurch die Dynamik von Zellpopulation, dendritischer Verbindungen bis hin zu Einzelzellen raumzeitlich aufgelöst werden können. Durch die Weiterentwicklung dieser Technik ist es möglich geworden, aus den intrinsischen Signalen detaillierte Rückschlüsse auf die funktionelle Architektur des Kortex zu ziehen (Grinvald et al., 1986). Eine Erweiterung dieser Technik besteht in der Verwendung fluoreszenter Reporter, die entweder extern oder genetisch codiert in das Zielgewebe integriert werden. Die Farbstoffmoleküle ändern in Abhängigkeit spezifischer Umgebungsvariablen durch Konformationsänderung ihre Fluoreszenzeigenschaften. Technische Fortschritte zur Verbesserung der Aufnahmequalität und -geschwindigkeit sowie der Farbstoffe ermöglichen Analysen einzelner Aufnahmeserien kortikaler Netzwerkaktivität. Das in dieser Arbeit verwendete „Voltage-Sensitive Dye Imaging“ (VSDI) ist ein fluoreszenzbasiertes, mesoskopisches Messverfahren, dass in vivo eingesetzt werden kann und eine hohe zeitlich-räumliche Auflösung (1 bis 10 ms, räumliche Auflösungen < 50  $\mu\text{m}$  über ein Sichtfeld von bis zu 2  $\text{cm}^2$ ) zur Beobachtung der Spannungsänderungen einzelner Neuronen bis hin zu Populationsdynamiken ganzer kortikaler Areale oder zur lateralen Interaktion zwischen Arealen ermöglicht (Shoham et al., 1999). Als Reporter dient in dieser Arbeit der Farbstoff RH1691 (Optical Imaging Ltd., Israel, Abbildung 12), dessen Fluoreszenzeigenschaften, nach Bindung in die äußere Schicht des Bilayers der Plasmamembran neuronaler Zellen, einen spannungsabhängigen Zustand annimmt (Shoham et al., 1999; Grinvald & Hildesheim, 2004).



**Abbildung 12:** A) Chemische Struktur des spannungssensitiven Farbstoff RH1691 (Optical Imaging Ltd., Israel) (Lebeuf et al., 2009). B) Der Farbstoff (dunkelblau) dringt in die erste Schicht des Bilayers der Plasmamembranen ein und ändert dort in linearer Abhängigkeit der lokalen Potentialänderung die Intensität seiner Fluoreszenz.

Der Farbstoff absorbiert Licht der Wellenlänge 630 nm und emittiert Licht im Intervall zwischen 645 – 665nm, in dem insbesondere auch Hämoglobin weniger Licht emittiert und als Störsignal in Form neurovaskulärer Kopplungen reduziert wird (Ratzlaff & Grinvald, 1991). Die Veränderungen der messbaren Intensität der Fluoreszenz ist linear zur Veränderung der Membranspannung und erlaubt eine zeitliche



Auflösung im Bereich von Millisekunden (Grinvald et al., 1999; Shoham et al., 1999). Das Verfahren spiegelt hauptsächlich den Erregungsgrad einer Zellpopulation in Form von unterschwelligen Membranspannungsveränderungen im Bereich von 100 mV von postsynaptischen neuronalen Elementen wie EPSPs und IPSPs in den Dendritenbäumen pyramidalen Zellen in Schicht II und III wieder (Grinvald et al., 1999; Petersen et al., 2003). VSDI kann Zugang zu raumzeitlichen Dynamiken geben, die eine Komplexität aufweisen, deren Analyse alles andere als trivial ist. Die Signalqualität ist in besonderem Maße von einem guten Signal-Rausch-Verhältnis abhängig und kann durch technische oder biologische Störquellen limitiert sein. Daher ist eine robuste, vorangehende Bereinigung des VSDI-Signals von diesen Störquellen von besonderer Bedeutung (Muller et al., 2017) und seit der Einführung dieses Messverfahrens Teil anhaltender Optimierungsprozesse. Die Entfernung von Störsignalen aus dem rohen Signalverlauf sind ein entscheidender Faktor für Langzeitmessungen und Beständigkeit der Signalqualität, insbesondere wenn auf dem Niveau von Einzelaufnahmen gearbeitet werden soll. Die in dieser Arbeit verwendeten Methoden zur Identifikation, Reduktion und Entfernung von Bleicheffekten, physiologischen, mechanischen und elektrischen Störquellen aus dem VSDI-Signal wird daher den Kapiteln 6.3 und 6.6 im Detail dargestellt.

## 5. Motivation und Fragestellung

Seit Beginn neurophysiologischer Datenerhebung konnte stets beobachtet werden, dass neuronale Antwortdynamiken trotz unveränderter Stimulationsbedingungen unterschiedlich ausfallen können. In der Analyse der neurophysiologischen Daten war es lange Zeit üblich diese Variationen nicht näher zu untersuchen. Der zentrale Schritt der Quantifizierung neuronaler Aktivität bestand meist aus der Beurteilung des über mehrere Aufnahmesequenzen gemittelten Antwortverhaltens. Auf Grund technischer Möglichkeiten, aber auch aus der anfänglichen Idee heraus, dass es sich bei evozierten Antworten um statische Aktivitätsquellen handelt, wurden oft entweder lokale zeitliche Verläufe oder räumlich, topographische Aktivitätsmuster betrachtet (Alexander, Trengove, & Leeuwen, 2015). Im Laufe der Zeit verdichtete sich allmählich die Vermutung, dass diese Variationen aus dynamischen Kommunikationsmechanismen hervorgehen. Erste Befunde zeigten, dass auch in Phase der Grundaktivität ohne jeglichen sensorischen Input neuronale Aktivierungsmuster auftreten, die mit evozierten, lokalen Aktivitätsmustern korrelieren (Kenet et al., 2003; Holcman & Tsodyks, 2006). Variable internen Zustände des Zentralnervensystems werden zunehmend in enge Beziehung zu Modulationen von evozierten Stimulationsantworten durch spontane neuronale Aktivität gesetzt, die man ihrerseits wieder als Repräsentation eines internen Zustandes ansehen kann. Nicht evozierte, spontane Aktivitätsdynamiken können eine wesentliche Rolle bei der Integration-, Verarbeitung und Modulation sensorischer Informationen einnehmen und reflektieren womöglich selbst ein grundlegendes Organisationsverhalten des gesamten Informationsflusses. Die Wahrnehmung von und Reaktion auf externe Reize ist demnach nicht nur von instantaner Informationsverarbeitung abhängig, sondern beruht auch auf Erfahrungen, Erwartungshaltungen und Aufmerksamkeitsphänomenen. (Arieli et al., 1995, 1996; Destexhe and Contreras, 2006; Haider and McCormick, 2009; Kenet et al., 2003; Ringach, 2009; Tsodyks et al., 1999). Welche Rolle spielt diese funktionelle Dynamik innerhalb des anatomischen Netzwerks und durch welche Prozesse werden sie generiert? Wie modulieren Interaktionen zwischen kortikalen Arealen die Prozessierung evozierter Aktivität? Welche Auswirkung haben spontane Zustände auf nachfolgende evozierte Aktivität? Um das Layout der kortikalen Topographie, sowie die raumzeitliche Interaktionsdynamik spontaner und evozierter Aktivität näher zu beleuchten, sollen in der vorliegenden Arbeit simultan erfasste elektrophysiologische und optische VSDI-Aufnahmen der visuellen Kortexareale PMLS und Area 18 von anästhesierter Katzen untersucht werden.

## 6. Material und Methoden

Die folgenden Kapitel beschreiben die Synchronisation des Aufnahmesystems und die Reduktion technischer Störsignale. Außerdem werden Vitalüberwachung und Medikation des Versuchstieres, sowie die Konfiguration der optischen Messkammer und Lokalisierung der Messpunkte erläutert. Die letzten Unterkapitel befassen sich mit den verwendeten mathematischen Analysemethoden für die elektrophysiologischen und optischen Datensätze. Die mathematische Auswertung wurde in Matlab™ (2010a, Mathworks, US) durchgeführt. Für die vorliegende Studie wurden insgesamt 4 Katzen im Alter zwischen 24 – und 42 Monaten untersucht. Die Katzen stammten aus der Zucht des Max-Planck-Instituts für Hirnforschung in Frankfurt am Main. Die Untersuchungen und die dafür notwendigen operativen Eingriffe wurden im Rahmen eines genehmigten Tierversuchsverfahrens und im Einklang mit dem deutschen Tierschutzgesetz durchgeführt.

### 6.1 Der Gesamtaufbau

Der Gesamtaufbau besteht aus einem optischen und einem elektrophysiologischen Aufnahmesystem, der Stimulationseinheit sowie einer Konfiguration zur Vitalüberwachung. Alle Einheiten werden untereinander über eine Transistor-Transistor-Logik (TTL) synchronisiert. Als zentrales Interface dient hier das optische Ableitsystem „Imager 3001“ (Optical Imaging Inc., Rehovot, Israel) in Verbindung mit der Software VDAQ2.5 (Optical Imaging Inc., Rehovot, Israel) zur Konfiguration der Stimulationsabfolge und der Ansteuerung des Kamerasystems. Die Stimulationseinheit und das elektrophysiologische Ableitsystem sind über eine Triggerschleife mit dem optischen Ableitsystem verbunden und befindet sich im Wartemodus. Die Stimulation beginnt mit dem Startsignal des optischen Ableitsystems, wenn die Bedingungen der Vitalüberwachung erfüllt sind.

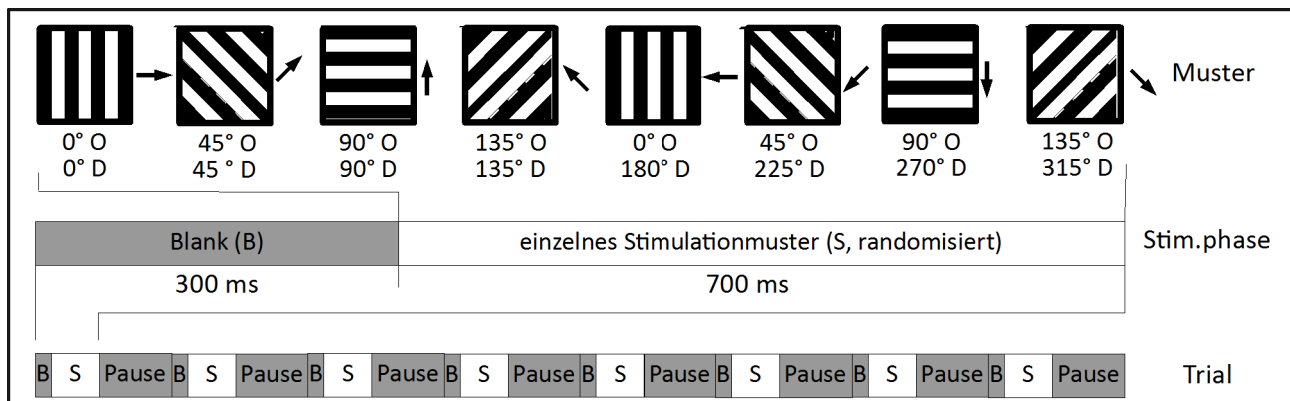
### 6.2 Das Stimulationssystem

Die visuelle Stimulation erfolgte über einen 21 Zoll CRT-Monitor (Accuvue HM4921D) mit einer Bildwiederholfrequenz von 100 Hz, einer Auflösung von 640x480 Bildpunkten und einer Farbtiefe von 8 bpp (bit per pixel) unter maximal möglichem Kontrast. Das relative Kontrastverhältnis zwischen maximaler und minimaler Luminanz ist im Sinne des Michelson-Kontrasts  $K_m$  (1) zu verstehen und wurde für die jeweiligen Stimulationsmuster anhand des gemessenen Helligkeitsunterschieds zwischen Objekt und Hintergrund definiert. Die Bildschirmfläche wurde in einem Abstand von 57 cm im zentralen Gesichtsfeld positioniert, wodurch 1 cm auf dem Bildschirm 1° Sehwinkel entspricht. Die Stimulationsmuster wurden mit der

Software StimulPL (Autor: Prof. Rainer Goebel, hauseigenes Programm des Max-Planck-Instituts für Hirnforschung, Frankfurt am Main) generiert.

$$K_m = \frac{L_{max} - L_{min}}{L_{max} + L_{min}} \quad (1)$$

Im wesentlichen wurde mit sich bewegenden Balkenmustern stimuliert. Die Geschwindigkeit der Balkenmuster betrug 16 °/s mit einer Ortsfrequenz von 0.15 cpd (cycle per degree) und einem maximalen relativen Kontrast zwischen hellem und dunklem Anteil von 97%. Vier Orientierungskonfigurationen zwischen 0° - 180° wurden acht Bewegungswinkel zwischen 0° - 315° in 45° Schritten zugeordnet (Abbildung 13). Die Orientierung (O) der Balken stand dabei jeweils orthogonal zur Bewegungsrichtung (D, Pfeil). Jede Stimulationsphase setzte sich aus einer 300 ms andauernden Präsentation des uniform ausgeleuchteten, grauen Bildschirms zur Aufnahme der Grundaktivität (Blank, B) und einer 700 ms andauernden Präsentation eines Stimulationsmusters (S) zusammen. Jede Aufnahmeserie (im Folgenden „Trial“ genannt) setzt sich aus acht Mustern (300 ms (B) + 700 ms (S)) und mindestens einer vollständigen Grundaktivitätsaufnahme (300ms (B) + 700ms (B)) zusammen.



**Abbildung 13:** Das präsentierte Stimulationsmuster. Die Orientierung (O) der Balken steht orthogonal zur Bewegungsrichtung (D, Pfeil). Aufbau eines Trials.

Die Abfolge der Stimuli wurde für jeden Trial pseudo-randomisiert. Die Präsentation der Stimulationsphasen wurde durch Pausen von 35 Sekunden unterbrochen, um systematische biologische Artefakte in Form anhaltender kortikale Aktivität durch eine vorangehende Stimulation im VSDI-Signal zu reduzieren.

### 6.3 Das optische Ableitsystems

Als Kriterium für den Aufbau des gesamten optischen Aufnahmesystems, insbesondere für die Auswahl des Kamerasensor, spielt die Zusammensetzung des Signal-Rausch-Verhältnisses (SNR) eine entscheidende

Rolle, da die relative Stärke des spannungsabhängigen Farbstoffsignals in-vivo nur  $10^{-4}$  bis  $10^{-3}$  der gesamten am Detektor ankommenden Lichtintensität beträgt (Grinvald et al., 2001). Bei VSDI müssen technische, physikalische, als auch biologische Artefakte reduziert werden, die diese Signal überlagern. Der Aufbau des in dieser verwendeten optischen Ableitsystems basiert auf der Beschreibung eines Tandemmakroskops aus (Ratzlaff & Grinvald, 1991). Modifikationen zur Verbesserung der Aufnahmequalität des ursprünglichen Systems werden in (Vögler, 2014) aufgeführt und im Folgenden zusammengefasst. Als physikalisches Rauschen sei zunächst das sogenannte „shot noise“ ( $N_s$ ) erwähnt, das eine messbare Fluktuation des von der Lampe und der beleuchteten Oberfläche emittierten Lichts beschreibt. Es entsteht dadurch, dass Photonen auf Grund ihrer natürlichen Streuung nicht exakt senkrecht auf den Photodetektor der Kamera treffen, sondern räumlich und zeitlich randomisiert auf benachbarte Bereiche des Sensorarrays abgelenkt werden können, was ein Bildrauschen zur Folge hat. Die Beleuchtungsstärke erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass alle Sensorpunkte die gleiche Menge Photonen über ein konstantes Zeitfenster detektieren. Der Anteil an „shot noise“ im Gesamtsignal ( $S_p$ ) ist quadratisch abhängig vom Gesamtsignal selbst (2) und wird kleiner, je größer die Licht- bzw. Signalintensität.

$$N_s = \sqrt{S_p} \quad (2)$$

Die relative Fluktuation der Photonen auf der bestrahlten Sensorfläche reduziert sich mit Erhöhung der Lichtintensität (Grinvald et al., 2001). Dadurch erhöht sich jedoch auch der photodynamische Bleicheffekt des Farbstoffs und die mögliche Aufnahmezeit wird reduziert. Der hier verwendete Farbstoff RH1691 bleibt Herstellerangaben zu Folge bei einer Beleuchtungsstärke und Kamerasättigung von  $10^6$  Elektronen/Pixel und einer zeitlichen Auflösung von 4-10 Millisekunden pro Bild über eine Aufnahmezeit von 1 Sekunde für bis zu 256 Einzelaufnahmen stabil. Das „shot noise“ ist damit einer der stärksten limitierenden Faktoren des VSD-Imagings. Die verfügbare Lichtstärke hängt mit der Apertur der verwendeten Objektive zur Fokussierung auf die Mess- und Sensorfläche und dem Filtersystem zusammen. Das „shot noise“ ( $N_s$ ) kann unter optimaler Beleuchtung reduziert und im formellen Zusammenhang zur Beschreibung des Signal-Rausch-Verhältniss (SNR, „signal to noise ratio“) (3) vernachlässigt werden (Andor, 2009).

$$SNR = \frac{\frac{QE}{100} * S_p}{\sqrt{N_r^2 + N_d^2 + (\frac{QE}{100} * S_p)}} \quad (3)$$

Aus der Gleichung geht dann hervor, dass bei geringer Signalstärke ( $S_p$ ) eine möglichst hohe Quanteneffizienz (QE) des optischen Sensorsystems für die Zielwellenlänge erreicht werden muss, indem zwei weitere technischen Störquellen, das s.g. „read noise“ ( $N_r$ ) und „dark noise“ ( $N_d$ ), reduziert werden müssen. Die QE (4) ist das Verhältnis eintreffender Ladungen ( $N_e$ ) zur Anzahl der eintreffenden Photonen ( $N_v$ ) in Abhängigkeit zur Wellenlänge ( $\lambda$ ) oder das Produkt eines systemspezifischen, kalibrierten QE-Wertes mit dem Verhältnis eintreffender Ladung ( $I$ ) zur einer Referenzladung ( $I_{cal}$ ).

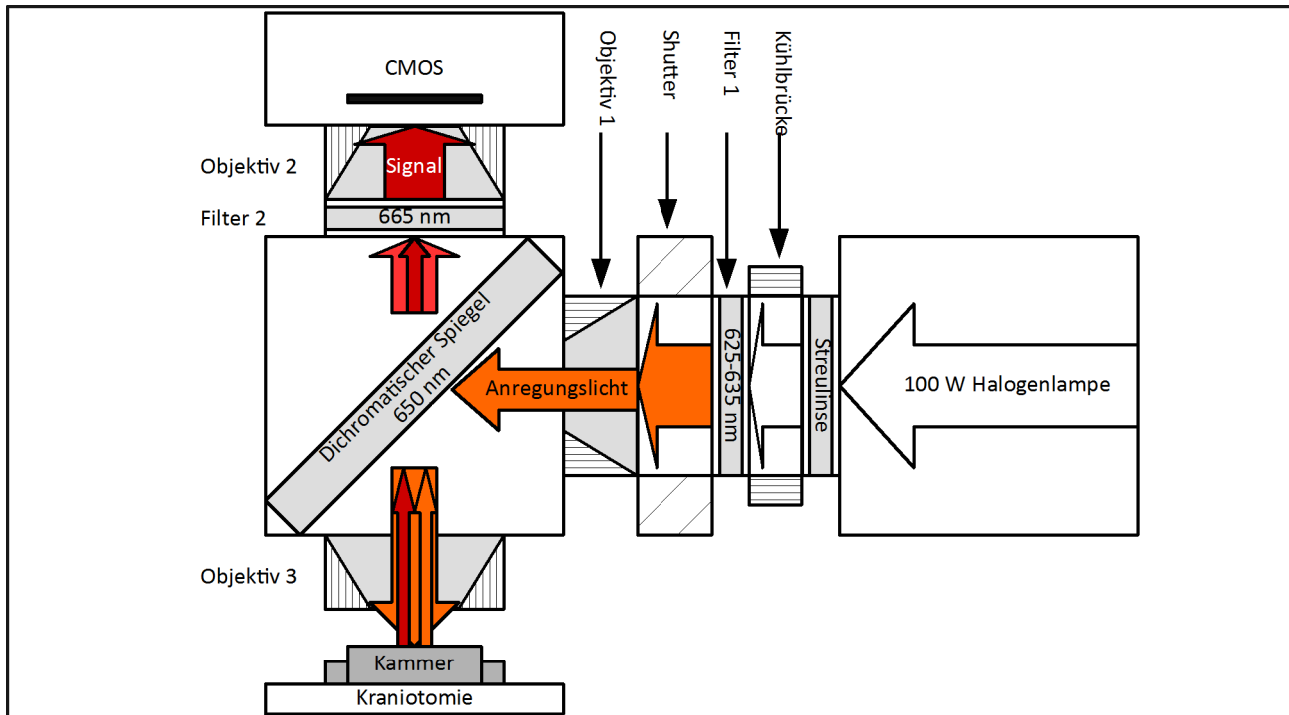
$$QE(\lambda) = QE(\lambda)_{cal} (I / I_{cal}) = N_e / N_v(\lambda) \quad (4)$$

In dieser Arbeit wurde daher eine CMOS-Kamera der Firma Photonfocus (Model: MV1-D1312-160-CL-12, Monochrom, A1312-Bildsensor) als optisches Sensorsystem verwendet. Alle folgenden Angaben fassen die wichtigsten Herstellerangaben zum Model Photonfocus MV1-D1312-160-CL (Photonfocus, n.d.) zusammen. Jeder Bildpunkt des Sensors entspricht einer Fläche von  $8 \times 8 \mu\text{m}$  und verfügt über eine eigene ADC-Auslesestruktur (ADC - „alternating/direct current“), um Ladungen in Spannungen umzuwandeln, was zu Ungleichheiten in der Uniformität zwischen Pixel führt. Standardmäßig wird die dabei als „read noise“ auftretende technische Störkomponente für jedes CMOS-System angegeben (hier  $110e^-$ ) und bezieht sich auf den Median aus der Verteilung der Pixel in Abhängigkeit zu ihrer individuellen Ladungsaufnahme. Des weiteren bestimmen Ausleserate und Leistungsaufnahme die zeitlich (T) abhängige Temperaturentwicklung des Kamerasystems. Dadurch ergeben sich temperaturabhängige, statistische und lichtunabhängige Fluktuationen von Elektronen an jedem einzelnen Pixel, die man als „dark currents“ ( $I_d$ , hier  $4000 e^-/s$ ) und daraus ergebendes „dark noise“ bezeichnet (5).

$$N_d = \sqrt{I_d T} \quad (5)$$

Das SNR wird für dieses Kamerasystem bei ausreichend starker Beleuchtung mit bis zu 300:1 angegeben, wobei die Quanteneffizienz für Wellenlängen zwischen 350-950 nm bei etwa 45% liegt. Die geringe Leistungsaufnahme der Kamera, und damit geringe Temperaturentwicklung, ermöglicht außerdem hohe Ausleseraten, die nur von Auflösung und Belichtungszeit abhängig sind. In dieser Arbeit wurde das System für eine Rate von 150 Hz unter  $1024 \times 990$  Pixel mit einer Belichtungszeit von 0.01 ms optimiert, was eine zeitlichen Auflösung von 0.067 Sekunden pro Einzelbild ermöglicht. Technisches Rauschen wurde unter diesen Bedingungen auf ein Minimum reduziert. Biologische Störquellen treten dagegen in Form von Bewegungen der Kortexoberfläche bedingt durch atmungsabhängige oder vaskuläre Druckveränderungen auf. Diese wurden durch Synchronisation der Aufnahmen mit Herzschlag und Atmung reduziert und, wie in

Kapitel 6.6 beschrieben, spezifisch aus dem VSDI-Signal entfernt. Der Aufbau des optischen Ableitsystems ist in (Abbildung 14) aufgeführt.



**Abbildung 14:** Schematische Darstellung des Makroskops. Die Pfeile stellen jeweils die Wellenlänge vor und hinter jeder Filterstufe dar. Zunächst wird das Weißlicht der Halogenlampe über einen Bandpassfilter auf den Bereich des Anregungsspektrums (625-635 nm) reduziert und über Objektiv 1 auf den dichromatischen Spiegel fokussiert. Ein dichromatischer Spiegel lenkt das Anregungslicht durch Objektiv 2 auf die Ableitkammer. Das von der Kortexoberfläche emittierte Licht, bestehend aus dem Farbstoffsignal und Streulicht, wird über den dichromatischen Spiegel und Filter 2 auf das Antwortspektrum des Farbstoffs zwischen 650-665 nm gefiltert und über Objektiv 3 auf den Kamerachip (CMOS) fokussiert.

Zwei lichtstarke Objektive (2, 3) (Nikkor, 50mm, f/1.2) bilden den Hauptstrahlengang des Makroskops, was eine 1:1 Übertragung der Kortexoberfläche auf den Aufnahmesensor des Kamerasystems ermöglicht und so eine Fläche von bis zu ca. 10.5 mm x 8,7 mm umfassen kann. Das Objektiv der Kamera blickt dabei auf das entgegengesetzt über der Messkammer positionierte Objektiv. Die Belichtungszeit wird über einen Hochgeschwindigkeitsschutter kontrolliert (Shuttertreiber: VCM-D1, UniBlitz Electronics, Shuttermodell: VS25S2ZM0, UniBlitz Electronics). Als Lichtquelle dient eine Halogenlampe (Model: Phillips, Type 6550, Al/234, 15V, 150W, G6.35). Die Bildebene der Kamera wird um 600 µm unterhalb der Kortexfläche fokussiert, um periphere Blutgefäße auszuschließen und die Signale aus den oberen Kortexschichten zu messen. Zwei Filterstufen, bestehend aus dem dichromatischen Spiegel und einem 650 nm Filter, reduzieren das von der Kortexoberfläche emittierte Streulicht auf das Fluoreszenzspektrum des eingesetzten Farbstoffes.

## 6.4 Das elektrophysiologische Ableitsystem

Die elektrophysiologische Ableitung des PMLS (Versuchsreihe 112511, 030512, 092413) erfolgte mit vorgefertigten und Parylene-C 3  $\mu$  isolierten Wolframelektroden des Zulieferers „Microprobes for Lifescience“ (Gaithersburg, MD 20877, USA, F Profile, Impedanz 0.4 M $\Omega$ ). Der Gesamtdurchmesser wurde mit 250  $\mu$ m angegeben, die Elektrodenspitze ist ab Werk 0,5 mm exponiert und verjüngt sich in einem Verhältniss von 40:1. Für die Versuchsreihe 090214 (Intan-System) wurden zur Ableitung des PMLS mit Pyrex-Glas isolierte Wolframelektroden aus der Elektrodenwerkstatt des Max-Planck-Institutes für Hirnforschung (Frankfurt am Main) verwendet. ECoG-Ableitungen von Area 18 erfolgten mit subdural aufgetragenen Silberballelektroden. Mit Teflon ummantelte und aus einer Platin-Iridium-Legierung bestehende Fadenelektroden mit einem Durchmesser von 25  $\mu$ m und einer Länge von 1 – 2 mm dienten der Ableitung von Aktionspotentialen der oberen Kortexschichten in Area 18 der Experimente 030215/092413/090214. Die Impedanz der Fadenlektroden lag zwischen 0,4 – 0,6 M $\Omega$ . Über den Zeitraum der verschiedenen Versuchsreihe kamen durch Verbesserungen des Aufbaus unterschiedliche elektrophysiologische Aufnahmesysteme zum Einsatz, die zur Referenz in (Tabelle 1) aufgeführt sind.

	112511	030215	092413	090214
Hersteller	Alpha Omega Engineering	Alpha Omega Engineering	Neuralynx	Intan Technologies LLC
System	MCP-Plus	MCP-Plus	Digital Lynx	Intan RHD2000
Headstage	10x Pre-Amplifier	10x Pre-Amplifier	Plexon 32	RHD2132
Abtastrate [Hz]	19841	22727	32556	20000
<b>Tabelle 1</b> : Eingesetzte elektrophysiologische Aufnahmesysteme.				

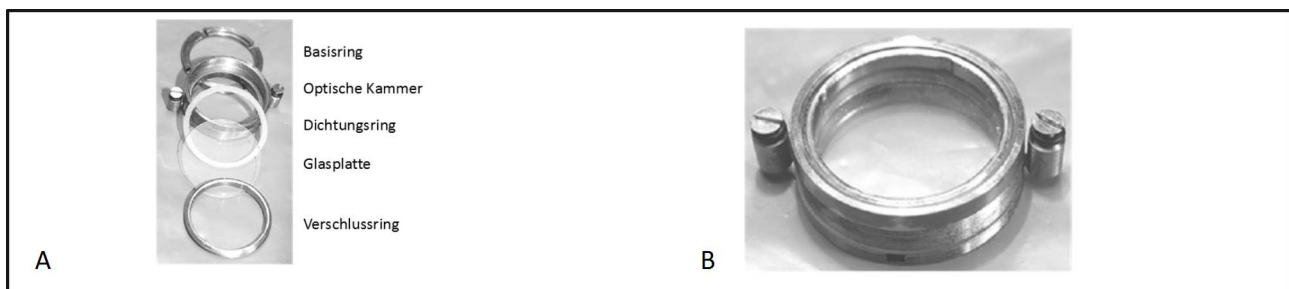
## 6.5 Vitalüberwachung und Präparation

Zunächst wird das Versuchstier gewogen und mit 10 mg/kg Ketaminhydrochlorid (Ketamin 10 %, Bela-Pharm GmbH, Vechta) und 1 mg/kg Xylazinhydrochlorid (Rompun 2%, BayerVital, Leverkusen) anästhesiert und eine Tracheotomie durchgeführt. Der Kopf des Versuchstieres wird mit zwei Jochbein- und Ohrstiften, die in den knöchernen Gehörgang eingesetzt werden, und einem Kieferhalter in einem Stereotaxierahmen fixiert. Der in die Luftröhre eingeführte Trachealtubus wird mit einer Atempumpe (Ugo Basile 6025, Italien) verbunden, die nur während einer Einzelmessung für maximal 3 Sekunden gestoppt wird. Der Atemdruck wird unter einer Atemfrequenz von 10 – 20 Zyklen pro Minute und 50 – 60 ml Atemvolumen zwischen 5 – 15 mbar gehalten. Das Granulat zum Auffangen von Feuchtigkeit im Atemsystem ist regelmäßig auszuwechseln. Die Beatmung erfolgt mit einem Atemluftgemisch aus 65 % N<sub>2</sub>O und 34 % O<sub>2</sub>. Die Vitalüberwachung des Versuchstieres erfolgt sofort nach der Tracheotomie. Über zwei subkutane EKG



Elektroden wird der Herzschlag des Tieres auf einem Oszilloskop angezeigt. Außerdem wird die Herzfrequenz akustisch und über das digitale Zählwerk des Oszilloskops überwacht. Die Körpertemperatur wird mit einem Rektalthermometer gemessen und mit einer Heizdecke automatisch auf konstante 38° Celsius reguliert. Die Narkose wird während der Ruhephasen durch Beimischen von 1 – 1,2 % und während Aufnahmephasen mit 0,6 % des in der Veterinärmedizin gebräuchlichen Inhalationsanästhetikum Halothan zur Atemluft reguliert. Mit Halothan wird nach Ausschalten des Bewusstseins Schmerzfreiheit erreicht (Erhardt & Kölle, 2004; Aktories et al., 2017). Je nach Effekt - z.B. auf Form und Frequenz des Herzschlags, dessen Regelmäßigkeit und Stabilität als ein Indikator für die Narkosetiefe dienen kann - müssen die Konzentrationen des Halothans individuell angepasst werden. Mit der Zulassung des weniger toxischen Isoflurans hat Halothan zwar an Bedeutung verloren. In vergleichenden Studien (Villeneuve & Casanova, 2003) konnte jedoch gezeigt werden, dass eine Anästhesie mit Isofluran die Antwortstärken kortikaler Neurone geringfügig stärker erniedrigen kann als mit Isofluran. Die Konzentration des jeweiligen Anästhetikums steht laut Studie in direktem Zusammenhang mit der Stabilität des Herzschlags und der Konzentration des CO<sub>2</sub>-Gehalts in der Atemluft des Versuchstieres und definiert über diesen Weg den stabilen Zustand des Versuchstieres innerhalb eines engen Konzentrationsintervalls. Geringfügig zu hohe oder zu niedrige Konzentrationen führen zu einer deutlichen Erniedrigung bzw. Erhöhung des Herzschlags. Im Fall von Halothan wurde gezeigt, dass der CO<sub>2</sub>-Gehalt in der Lunge auf niedrigerem Level stabil bleibt (Villeneuve & Casanova, 2003). Das Endergebnis der Studie empfiehlt den Einsatz von Isofluran für initiale Anästhesien, sowie für spezifische Ableitungen in Area 17 und zur Stabilisierung bei Herzrhythmen. Für eine robustere Datenakquise im visuellen System wird weiterhin Halothan empfohlen, da dieses einen nachweislich geringeren Einfluss auf Antwortstärke und -verhalten der Neuronen in diesen Bereichen aufweist. Die permanente Überwachung der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Atemluft erfolgt über einen Patientenmonitor (Dash3000, GE Medical Systems). Ein Venenkatheter mit 3-Wege-Hahn an einem der Vorderbeine ermöglicht die Applikation von Infusionslösungen für die Vitalerhaltung und Medikation während der Vorbereitungen und der Dauer des Experiments. Im gesamten Experiment wird das Versuchstier konstant über einem Perfusor unter einer Flussrate von 3 ml/h intravenös mit einer isotonen Kochsalzlösung (0,9%, B.Braun Melsungen AG) infundiert. Um die Augenbewegung während der Aufnahmephasen zu verringern, wird der Infusionslösung das Muskelrelaxans Pancuroniumbromid (36 ml NaCl + 4 ml Pancuronium) zugegeben. Die Augen werden vor jedem Einsetzen von Kontaktlinsen zur Erweiterung der Pupillen mit Neosynephrin (Verdünnung 3:7 in NaCl), zur Refraktion der Nickhäute und Atropin-Augentropfen benetzt. Die Refraktion der Augen wird individuell mit einem Refraktometer gemessen und entsprechende Kontaktlinsen zur Korrektur des Brechwertes eingesetzt, um eine scharfe Repräsentation der Monitorfläche auf der Netzhaut zu gewährleisten. Die Kontaktlinsen werden in

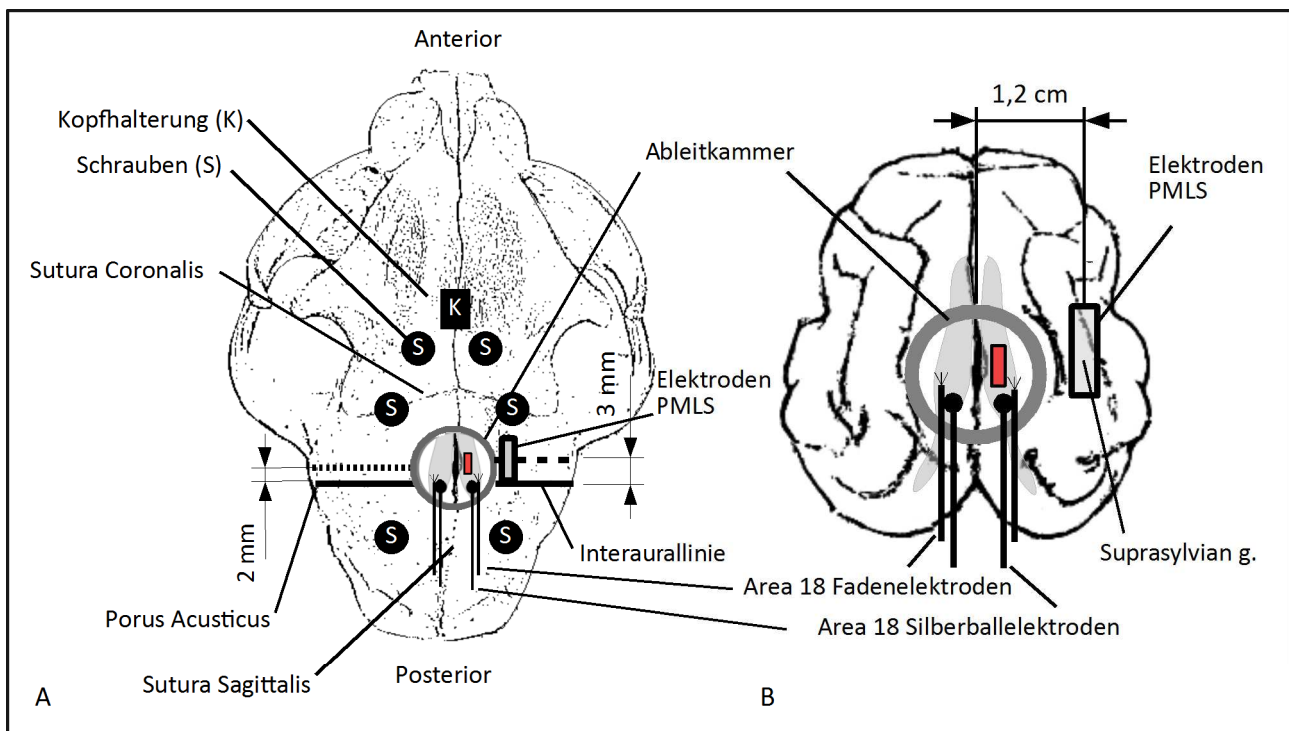
Ruhephasen etwa alle 1-2 Stunden entfernt und die Augenlider für einige Stunden geschlossen. Um Beschädigungen der Cornea zu verhindern, werden die Augen zwischen den Messungen und in den Ruhephasen mit NaCl-Lösung und Augentropfen (Artelac, Bausch & Lomb) befeuchtet und der Sitz der Kontaktlinsen regelmäßig mit dem Ophthalmoskop überprüft (Netzhautgefäße müssen sichtbar bleiben). Um den Glukosespiegel und Elektrolythaushalt zu stabilisieren, wird in einem Rhythmus von 4 Stunden je eine frisch vorbereitete Dosis von 3 ml Glukose (10% Glukose-Lösung, B. Braun Melsungen AG) und 1 ml Tutofusin (Baxter, Deutschland, Vollelektrolytlösung, 140 mmol/L Na<sup>+</sup>, 5 mmol/L K<sup>+</sup>, 2,5 mmol/L Ca<sup>2+</sup>, 1,5 mmol/L Mg<sup>2+</sup>, 153 mmol/L Cl<sup>-</sup>) infundiert. Außerdem wird alle 3 – 4 Stunden zwischen den Aufnahmen die Blase des Tieres überprüft und bei Bedarf unterstützend in einen Auffangbeutel mit Katzenstreu entleert. Zur Vorbereitung der Kraniotomie wird das anästhesierte Tier mit Jochbeinhalterungen und Ohrstiften am Stereotaxierahmen fixiert. Nach Anbindung an die Systeme der Vitalüberwachung wird der Schädel des Tieres rasiert und mit Braunol desinfiziert. Um den Schädelknochen freizulegen wird die Kopfhaut mit einem Medianschnitt vom Hinterhauptbein zur Stirn gelöst und das Muskelgewebe mit einem Raspatorium entfernt. Unter Verwendung eines topographischen Atlas des Katzenshirns (Reinoso-Suárez, 1961) und des dreidimensionalen, stereotaktischen Horsley-Clarke-Koordinatensystems (Clarke, 1908) werden die Bereiche der Area 18 und des rechten oder linken PMLS auf dem Schädelknochen mit einem Bleistift eingezeichnet. Der Mittelpunkt der Raumlinie zwischen den Ohrstiften (Interaurallinie) bildet den Nullpunkt des Koordinatensystems. Der Mittelpunkt der Ableitkammer (Abbildung 15) liegt 2 mm in Richtung anterior zur *Sutura Coronalis*.



**Abbildung 15:** Einzelteile (A) und zusammengesetzte Ableitkammer (B) aus rostfreiem Stahl.

Der Schädelknochen wird mit Hilfe eines Dremelbohrers mit geeignetem Fräsaufsatz schichtweise abgetragen. Der Basisring der Ableitkammer sowie die Kopfhalterung werden auf der Schädeloberfläche positioniert und über 6 Schrauben mit Dentalzement (Paladur, Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Hanau) fixiert (Abbildung 16). Die Kopfhalterung wird nach Aushärten des Dentalzements am Stereotaxierahmen befestigt und die Jochbeinhalterung und Ohrstifte entfernt. Mit einem Mikromanipulator werden Faden- und Silberballelektroden über Aussparungen des Basisrings posterior zwischen *Dura mater* und

Schädelknochen auf beiden Kortexhemisphären aufgelegt. Anschließend wird die *Dura mater* geöffnet und über der *medial longitudinal fissure* zusammengeklappt. Der Kortex wird während der weiteren Prozedur mit einer isotonischen Kochsalzlösung benetzt, um ein Austrocknen zu verhindern. In den PMLS-Kortex werden Elektroden unter einem Winkel von  $45^\circ$  von der Horizontallinie gegen die *medial longitudinal fissure* in den Übergang des medial gelegenen MS-Gyrus und MS-Sulkus eingeführt (A8-P2). Als Richtwert wird eine Einstichtiefe von min. 3 mm angenommen (Hubel & Wiesel, 1969; Palmer et al., 1978).



**Abbildung 16:** A) Dorsale Ansicht des Schädelknochens einer Katze mit angezeigten Knochennahten. Die Kopfhalterung (K) wird anterior zwischen den Augenhöhlen auf der *Sutura Sagittalis* positioniert. Der Mittelpunkt des Basisrings der optischen Ableitkammer befindet sich 2 mm von der Interaurallinie in anteriorer Richtung. Die Schrauben (S) werden an geeigneten Positionen um den Basisring positioniert. B) Lage der posterioren Silberballelektroden in Area 18. Die Kraniotomie für die mittlere Position der PMLS-Elektroden erfolgt 3 mm in anteriore Richtung von der Interaurallinie und 1,2 cm lateral der *Sutura Sagittalis* über dem Lateralen Suprasylvischen Sulkus. Die rot markierte Fläche markiert den fokussierten und ausgewerteten Bereich der Kortexoberfläche von Area 18.

Mit Hilfe einer Lichtbalken-Lampe wird über die Aktionspotentiale die Kontaktierung der Elektroden überprüft. Die Aussparung der Kortexoberfläche des PMLS außerhalb des Basisrings wird mit Agar und die Innenkante des Basisrings mit Knochenwachs abgedichtet, was auch die Regeneration der *Dura mater* aus der Peripherie heraus verhindert. Abschließend wird die Hauptkammer auf dem Basisring befestigt, die Kammer bis zur Färbung mit inkompressiblem Silikonöl ausgefüllt und mit einer Quarzglasscheibe dicht verschlossen, sowie die gesamte Messkammer und der posteriore Anschlussstecker der Faden- und

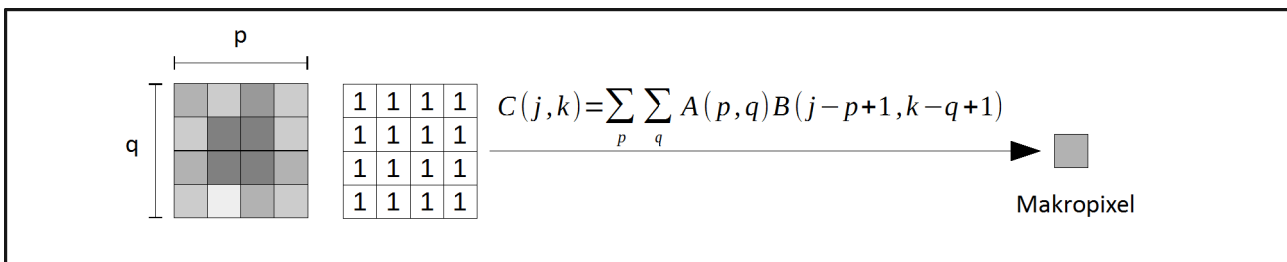
Silberballelektroden mit Dentalzement fixiert. Für die Färbelösung wird 1 mg des gefriergetrockneten Farbstoffs in 1.9 ml VSDI-Puffer (780 mg NaCl ; 37mg KCL ; 119mg HEPES ; 26 mg  $\text{CaCl}_2$  ; 20 mg  $\text{MgCl}_2$  ; 100 ml Aqua dest. pH 7,4) gelöst und die Kortexoberfläche für 2,5 Stunden unter Lichtausschluss gefärbt. Nach der Färbung wird die überschüssige Färbelösung mehrfach mit isotoner Kochsalzlösung ausgewaschen, die Ableitkammer wieder mit Silikonöl aufgefüllt und dicht verschlossen. Das Silikonöl verhindert während der Messungen die Verlagerung der Bildebene aus dem Fokus der Kamera durch herzsschlagabhängige Pulsationen und andere Ausdehnungsfaktoren.

## 6.6 Prozessierung der optischen Daten

Die Signalamplitude optischer Bildaufnahmen wird in der Regel als Division der raum-zeitlichen Aktivität durch die mittlere, totale Fluoreszenz der Bildfläche ( $\Delta F/F_0$ ) angegeben, was einer Normalisierung der inhomogenen Illumination entspricht. Diesem Schritt folgte meist die Subtraktion des arithmetischen Mittels der Grundaktivität, um Herzschlagartefakte durch Blutvolumenverschiebung im Gewebe zu reduzieren. Der resultierende Signalverlauf wird als Maß für die räumliche und zeitliche Populationsaktivität betrachtet. Die Synchronisation der Aufnahmen mit dem Herzschlag garantiert jedoch keine stabile Phasengleichheit und Frequenz des Herzschlagartefakts im optischen Signalverlauf der Grundaktivität zu den stimulierten Aufnahmen. Diese als „Blank-Step“, bzw. Blanksubtraktion (BKS) bezeichnete Aufreinigung (Reynaud et al., 2011) führt zu systematischen Fehleinschätzungen der cytoarchitektonischen Vergleiche zwischen Arealen, Plastizitätsentwicklung und Trial-Trial-Variabilität (Takagaki et al., 2008; Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017). Des Weiteren hängt die Signalstärke von der Qualität der Färbung ab und unterliegt Zerfallsprozessen, die entweder auf photodynamisches Bleichverhalten oder niederfrequente physiologische Fluktuationen zurückzuführen sind (Mayhew et al., 1996). Ansätze zur Entfernung von Störkomponenten aus optischen Signalen basieren oft auf der „principal component analysis“ (PCA), „independent component analysis“ (ICA), „indicator functions“ (IF) oder „linear model decomposition“ (LM) (Reynaud et al., 2011). Das VSDI-Signal enthält räumliche und zeitliche Dynamiken, die mit Grundannahmen zur Anwendbarkeit von PCA und ICA nicht vereinbar sind (Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017).

Eine aus der fMRI bekannte Methodik zur Identifikation, Reduktion und Entfernung von Bleicheffekten sowie physiologischer, mechanischer und elektrischer Störquellen wurde auch für die Anwendung auf VSDI in vorgeschlagen (Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017) und basiert auf der Dekomposition des Rohsignals über ein lineares Model (LM). Modelle bekannter Störkomponenten werden dabei pseudoregressiv an den Datensatz angepasst und von diesem subtrahiert. Die LM-Methode findet

Anwendung in einer Vielzahl optischer Ableitverfahren, z.B. beim Intrinsic-, Calcium-Imaging und fMRI. Das ursprünglich für in vivo Aufnahmen in Affen entwickelte Modell (Reynaud et al., 2011) wurde für die vorliegende Arbeit in Matlab™ (2010a) unter Berücksichtigung längerer Aufnahmezeiten, erhöhter Lichtstärke sowie der Verwendung eines modifizierten Kamerasystems, komplexerer Stimulationsantworten und Annahmen zu den biologischen Störkomponenten in modifizierter Form adaptiert. Insbesondere die Bleichdynamik des VSDI-Farbstoffs und die Modellierung der Stimulationsantworten wurden an eigene Beobachtungen angepasst. Um das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR - „signal to noise ratio“) zwischen verbleibenden, technisch bedingten Hintergrundfluktuationen und den neuronalen Antworten in den optischen Aufnahmen zu verbessern, wurden diese zunächst einem räumlichen 4x4-„Binning“ unterzogen, welches im Kontext der digitalen Bildverarbeitung der räumlichen Aggregation von Pixelformationen auf Basis eines zweidimensionalen Konvolutionsfilters (Abbildung 17) zu einem einzigen gewichteten Makropixel entspricht. Die Auflösung eines Bildes wurde dadurch von 8 x 8 µm (CMOS-Pixel) auf 32 x 32 µm pro Bildpixel reduziert.



**Abbildung 17:** Binning einer Pixelgruppe mit einer uniformen Gewichtungsmatrix. In diesem Fall ist der Bin-Faktor quadratisch und gegeben durch  $p = q = 4$ . Die Bildfläche wird mit der Koeffizientenmatrix durch Konvolution zu einem gewichteten Mittel zusammengefasst. Das resultierende Bild hat in Abhängigkeit vom Bin-Faktor eine reduzierte räumliche Auflösung.

Das lineare Modell  $y(t)$  eines zeitlich abhängigen, realen Signalverlauf wird in (Reynaud et al., 2011) als Summe gewichteter ( $\beta_k$ ) Regressoren  $x_k(t)$  von Zielkomponenten ( $k$ ) aufgefasst (6), deren Anteil ( $\beta_k$ ) am Gesamtsignal regressiv geschätzt wird, d.h. die Regressoren werden ausschließlich in ihrer Amplitude angepasst. Die Dekomposition des Signalverlaufs ermöglicht somit die Identifikation derjenigen Zielkomponenten, die offensichtlich auf die zuvor beschriebenen Störkomponenten hinweisen. Nach der Subtraktion vom Ausgangssignal verbleibt ein Residuenvektor  $p(t)$ , der im Falle neuronaler Aktivität neben weißem Rauschen auch Anteile nicht-deterministischer, spontaner Aktivität enthalten kann (Arieli et al., 1996).

$$y(t) = \sum_k \beta_k x_k(t) + p(t) \quad (6)$$

Die regressive Schätzung der Gewichtungsfaktoren ( $\beta_k$ ) erfolgte über die Moore-Penrose-Pseudoinverse Matrix  $X^+$  der Komponentenmatrix  $X$  (7) unter der Annahme, dass die Residuen  $p$  annähernd aus statistischem weißen Rauschen bestehen. Jedes Element des Vektors  $\beta$  in (7) stellt einen Gewichtungsfaktor für jede zeitliche Regressionskomponente in  $X$  dar.

$$\begin{aligned}\vec{\beta}^+ &= X^+ \vec{y} \\ X^+ &= (X^t X)^{-1} X^t\end{aligned}\tag{7}$$

Ein zentrales Problem der Normalisierung der VSDI-Daten besteht darin, dass das photodynamische Verhalten des Farbstoffs von vielerlei Faktoren abhängen kann, wie z.B. der Qualität der Färbung, der Spezies, sowie Lichtintensität und Aufnahmedauer. Insbesondere die phototoxischen Bleicheffekte des lichtsensitiven Farbstoffs bei Aufnahmen unter hoher Lichtintensität kann je nach Färbung unterschiedlich stark ausfallen. Die Regressionskomponente der initialen Bleichdynamik ( $X_B$ ) wurde über drei Ausgleichsfunktionen definiert, deren Parameter (Offset  $a_0$ , Gewicht der Funktion  $a_n$  ( $n = 1 - 3$ ), Zeitkonstante  $\tau$ ) zunächst über eine „non-linear least squares“ Optimierung an den Bleichverlauf der Grundaktivität angenähert wurden (8). Um die am häufigsten beobachteten Beschleunigungseffekte der Bleichkurve sowie deren Wendepunktverhalten zu beschreiben, wurden zwei Exponentialfunktionen ( $a_{1/2}$ ) als Gegenspieler in das Modell aufgenommen. Dieser Schritt hat sich als besonders kritisch erwiesen, da durch eine unzureichende Modellierung der Bleichdynamik Regressionsartefakte entstehen, die mit spontaner Aktivität verwechselt werden können oder im ungünstigsten Fall mit der oszillatorischen Regressionskomponente des Herzschlag ( $X_H$ ) interferieren. Die Geradenfunktion kompensiert den linearen Abfall des Bleichsignals, welcher bei Aufnahmesequenzen vom mehr als 1 Sekunde beobachtet wird. Man beachte, dass der Offset  $a_0$  aus der Bleichkomponente ( $X_B$ ) entfernt wird und als eigenständig gewichtete Komponente  $X_0$  in das lineare Gesamtmodell einfließt. Die aufgeführte Berechnung von Startparametern für die initiale Iteration der nichtlinearen Optimierung ist lediglich ein Vorschlag zur Vermeidung randomisierter Werte und beschleunigt des Anpassungsprozesses.

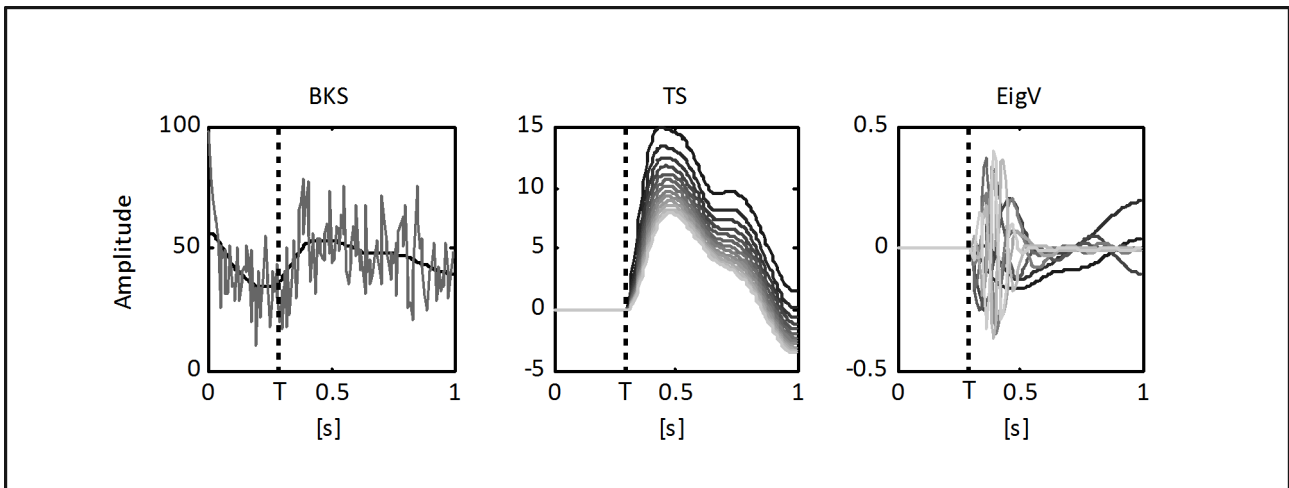
$$\begin{aligned}
\vec{F}_B &= a_0 + a_1 (e^{-\vec{t}/\tau_1} - 1) + a_2 (e^{-(\vec{t}/\tau)^2} - 1) + a_3 \vec{t} \\
a_0 &= y_{t=0} \\
a_{1,2} &= |y_{t=0} - y_{t=N}| \\
\tau_{1,2} &= t_{\min} \| (y - y_{t=0}) 1/e \| \\
a_3 &= (y_N - y_{\tau_1}) / (t_N - t_{\tau_1}) \\
\vec{X}_B &= \vec{F}_B - a_0
\end{aligned} \tag{8}$$

Die Regressionskomponente des Herzschlagartefakts ( $X_H$ ) wird, zusammen mit technischen Störkomponenten ( $X_N$ ), als periodischer Signalverlauf aufgefasst und in Form einer Fourierreihe dargestellt. Der sinusoidale und cosinoidale Anteil werden im Gesamtmodell jeweils einzeln gewichtet, wodurch Phasenunterschiede zwischen Einzelaufnahmen ausgeglichen werden. Dieser Schritt ermöglicht beispielsweise auch die Bereinigung von VSDI-Aufnahmen, die nicht mit dem Herzschlag synchronisiert sind, oder der Herzschlag innerhalb einer Aufnahmeserie starken Schwankungen unterliegt. Die Herzfrequenz wurde pro Trial ermittelt. Es wurde angenommen, dass das Herzschlagartefakt eine globale Störkomponente mit gleicher Phase in allen Pixelverläufen darstellt. Räumlich gemittelte Pixelverläufe der Grundaktivität wurden fouriertransformiert und die Frequenz mit der höchsten Amplitude innerhalb des physiologischen Intervalls um die mittlere EKG-Frequenz bestimmt.

$$\begin{aligned}
\vec{c}_n &= a \cos(2\pi f_n \vec{t}) \\
\vec{s}_n &= b \sin(2\pi f_n \vec{t}) \\
X_N &= [c_n s_n]
\end{aligned} \tag{9}$$

Die Regressionskomponenten des neuronalen Antwortverhaltens ( $X_R$ ) werden bei optischen Aufnahmeverfahren wie dem fMRI häufig als hypothetische Signalverläufe in Form von „Haemodynamic-Response-Functions“ (HRF-Modelle) modelliert (Woolrich et al., 2004). Die Erstellung dieser Modelle erfolgt meist restriktiv, d.h. Parameter zur Beschreibung von Latenzen und Amplituden werden vorgegeben (Reynaud et al., 2011). Für kurzzeitige Aufnahmeserien kann man von einer diskreten Anzahl an Signalwechseln im Antwortverhalten ausgehen. Je komplexer und länger die Stimulation ist, desto mehr Effekte können jedoch im Signalverlauf auftreten, die durch ein restriktives Modell unzureichend erklärt werden. Erschwert wird die theoretische Modellierung auch durch den räumlichen Aspekt und die damit steigende Anzahl an Zustandsmöglichkeiten. Je nach Ansatz kann dies zu Verzerrungen des realen Signalverlaufs führen (Lindquist et al., 2009). Damit einzeln gewichtete Vektoren in ihrer Summe möglichst reale Zustände der raumzeitlichen Signalverläufe pro zeitlichem Pixelverlauf nachbilden können, wurde der

Ansatz verfolgt, eine auf Aspekten des Realsignals basierende Regressionsmatrix zu erstellen. Zunächst wurde das lineare Modell der Störkomponenten ( $X_O$ ,  $X_H$ ,  $X_N$ ) regressiv an räumlich gemittelte, evozierte zeitliche Verläufe des Rohsignals angenähert und die resultierenden Prädiktionen von diesem subtrahiert, was im Prinzip einer Blanksubtraktion mit Phasenkorrektur entspricht. Mit Hilfe eines Medianfilters wurden aus dem Ergebnisvektor der Subtraktion Antwortmodelle generiert. Alternativ kann hier auch die FIR-Methode (Lindquist, Loh, Atlas, & Wager, 2009) verwendet werden. Aus den Antwortmodellen wurde eine Eigenvektormatrix gebildet (Reynaud et al., 2011). Phasen zeitlich kurzer Signaländerungen, wie beispielsweise die Latenzen nach Stimulationsbeginn, erhalten durch die Eigenvektorlogik eine erhöhte, und Plateauphasen dagegen eine geringere Variabilität, wobei zeitliche Position und Breite nun parameterfrei am realen Zeitverlauf orientiert sind (Abbildung 18). Wie in (Reynaud et al., 2011) beschrieben setzt sich  $X_R$  aus den ersten zehn Eigenvektoren zusammen.



**Abbildung 18:** Modell der Antwortkomponenten. BKS – Ergebnis der Blank-Subtraktion und mittlerer Verlauf. TS – Beispiele der schrittweisen, zeitlichen Glättung des mittleren Verlaufes. Aus den gesamten resultierenden Verläufen werden Eigenvektoren (EigV) berechnet. Die ersten zehn Eigenvektoren bilden die Antwortmatrix  $X_R$ . Signalwechsel bleiben als dynamische und Plateauphase als stabile Anteile erhalten.

Das rekonstruierte, bereinigte Signal  $y_D$  pro Pixel ist die Summe der gewichteten Antwortkomponenten  $X_R$  und der Residuen der Regression, dividiert durch das Illuminationslevel  $\beta_0$ , um das normalisierte Signal ( $\Delta F/F_0$ ) zu erhalten. Jede Einzelaufnahme kann somit in ein Set aus gewichteten, identifizierten Störquellen, Antwortkomponenten und Residuen summativ zerlegt werden.

$$y_D = 1/\beta_0 (\vec{\rho} + \sum_{n=1}^n \beta_n X_R) \quad (10)$$



In vielen Publikationen werden optische Bildaufnahmen in räumlich oder zeitlich gefilterter Form dargestellt. Die Qualität des VSDI-Signals bemisst sich allerdings auf Basis der Ähnlichkeiten von benachbarten Pixeln, da aus diesen strukturelle Informationen hervorgehen. Das Filtern der optischen Daten kann zu einer Fehleinschätzung des Signal-Rausch-Verhältnisses und der Topologie führen und sollte in den wenigsten Fällen und nur unter Einschränkungen der Filterkriterien eingesetzt werden (Royer & Schwartz, 1990a, 1990b; Shepherd, 2006). Als Filterkriterium wird in dieser Arbeit die relative Größe einer Orientierungskolumne des visuellen Kortex gewählt, deren Durchmesser wie beschrieben zwischen 300 und 600  $\mu\text{m}$  liegt und die Breite eines 2D-Gaussfilters mit  $\sigma = 1/2.3548$  als Relation zwischen Standardabweichung und Halbwertsbreite bestimmt. Als Bandpassfilter definiert, werden dadurch Signalanteile mit größerer oder kleinerer räumlicher Ausbreitung aus dem Bildmaterial entfernt. Die Halbwertsbreite von 30 Pixel entspricht etwa 960  $\mu\text{m}$  bei einer CMOS-Pixelgröße von 8  $\mu\text{m}$ . Das gefilterte Bild wird vom Original subtrahiert, was einem räumlichen Hochpassfilter entspricht. Für den Tiefpassfilter wurde eine Halbwertsbreite von 5 Pixel angenommen, die 160  $\mu\text{m}$  der Kortexoberfläche entspricht. Dieser Schritt hatte vorrangig den Sinn, globale Signalausbreitungen und Artefakte durch inhomogene Ausleuchtung zu entfernen und somit die Struktur lokaler neuronaler Populationen hervorzuheben. Dadurch werden allerdings neuronale Signalanteile von „Global Waves“ (GWE) oder „Traveling Waves“ aus den VSDI-Daten entfernt, die zunehmend mit Spontanzuständen in Verbindung gebracht werden und eine signifikante Rolle bei der Identifikation von „Brain States“ spielen (Shimaoka et al., 2017). Gefilterte VSDI-Daten werden ausschließlich zur Veranschaulichung struktureller Zusammenhänge verwendet. Darüber hinaus wird in dieser Arbeit grundsätzlich mit ungefilterten VSDI-Daten gearbeitet.

## **6.7 Prozessierung der elektrophysiologischen Daten**

Die elektrophysiologischen Signale der in dieser Arbeit verwendeten Elektrodenkonfigurationen wurden für die weitere Auswertung mit der Filterlogik eines kontinuierlichen und zwecks Nullphasenkorrektur zeitlich vor- und rückwärts laufenden Butterworth-Filters (Butterworth, 1930; Rabiner et al., 2007) gefiltert. Elektrophysiologischen Ableitungen liegen als ECoG- und LFP-Daten, sowie hochfrequenten Spike-Daten vor. Für jeden Signaltyp wurde ein Hoch- und Tiefpassfilter zweiter Ordnung in Form der in Tabelle 2 aufgeführten Frequenzintervalle definiert. Außerdem wurde in allen Fällen der Frequenzbereich des Wechselstromnetzes (50 Hz) dessen Harmonischen in dritter Ordnung aus dem Signal entfernt.

	LFP	EEG	MUA
Hochpass [Hz]	0.5	0.5	300
Tiefpass [Hz]	300	100	3000

**Tabelle 2** : Frequenzintervalle des verwendeten Butterworth-Filters in zweiter Ordnung.

Die mittlere relative Signalleistung wurden mit Hilfe der schnellen Fourier-Transformation (FFT - „Fast Fourier Transform“) berechnet. Neuronale Oszillationen werden dabei nach den in Tabelle 3 aufgeführten Frequenzbänder klassifiziert (G. Buzsaki, 2006). Die Berechnung der mittleren Leistungsdichte (PSD - „power spectral density“) jedes Frequenzbandes erfolgte durch eine approximierte Integration des fouriertransformierten Bandintervalls mit Hilfe des *avgpower*-Befehls in Matlab™ (2010a). Die relative Leistungsdichte jedes Trials wurde normalisiert, indem durch die mittlere absoluten Power dividiert wurde. Die absolute Power stellt dabei die Summe der Power aller Frequenzbänder dar.

	Delta	Theta	Alpha	Beta	Gamma 1	Gamma
[Hz]	1-4	5-7	8-14	15-30	31-49	52-75

**Tabelle 3** : Klassifikation neuronaler Oszillationen in Frequenzbänder (G. Buzsaki, 2006).

Die Hypothese der Kommunikation durch funktionelle Kopplung zwischen neuronalen Zellgruppe durch Kohärenz (CTC - „communication through coherence“) (Fries, 2005, 2016) geht davon aus, dass der Wirkungsgrad exzitatorischer und inhibitorischer Prozesse innerhalb neuronaler Zellverbände oder interareal durch koordinierte und gerichtete Synchronisation neuronaler Oszillationen moduliert und kommuniziert wird. Die mathematische Kohärenz stellt dabei den Grad der linearen Abhängigkeit einzelner Frequenzen zwischen zwei fouriertransformierten Signalverläufen dar und wird als korrelatives Maß zwischen 0 und 1 angegeben und ist das quadratische Kreuzleistungsspektrum  $P_{xy}$  geteilt durch das Produkt der Autoleistungsspektren ( $P_{xx}$ ,  $P_{yy}$ ) (11). Die Autoleistungsspektren  $P_{xx}$  und  $P_{yy}$  ergeben sich aus den gemittelten Kurzzeitspektren  $P_{xxT}$  und  $P_{yyT}$ , die als fouriertransformierte Abschnitte eines zeitlich unterteilten Signalverlaufs auch die Grundlage für die im Weiteren gezeigten Zeit-Frequenz-Spektrogramme bilden. Das mittlere Kreuzleistungsspektrum  $P_{xy}$  ergibt sich aus dem Erwartungswert des konvolutiven Produkts der Kurzzeitspektren (12, 13). Aus dem Kreuzleistungsspektrum kann der Phasenunterschied (14) des  $y$  - Signals im Vergleich zum  $x$  - Signal und somit der treibende Oszillator für jede Frequenz berechnet werden (Bokil et al., 2009). Tritt das  $y$ -Signal verzögert auf, nimmt der Phasenunterschied einen positiven Wert an und  $x$  kann als Quelle interpretiert werden. Durch diese Logik erschließt sich die Richtung des Informationsflusses und damit die funktionelle Komponente der anatomischen „feedforward“- und „feedback“-Definition in Form

von „top down“ und „bottom up“- Prozessen (Fries, 2016). Die Kohärenzanalyse wurde mit der Multitaper-Funktion (TW = 2, K = 3, win = [0,2; 0,02]) der Chronux-Toolbox (Purpura & Bokil, 2008; Bokil et al., 2009) für Matlab™ (2010a) durchgeführt.

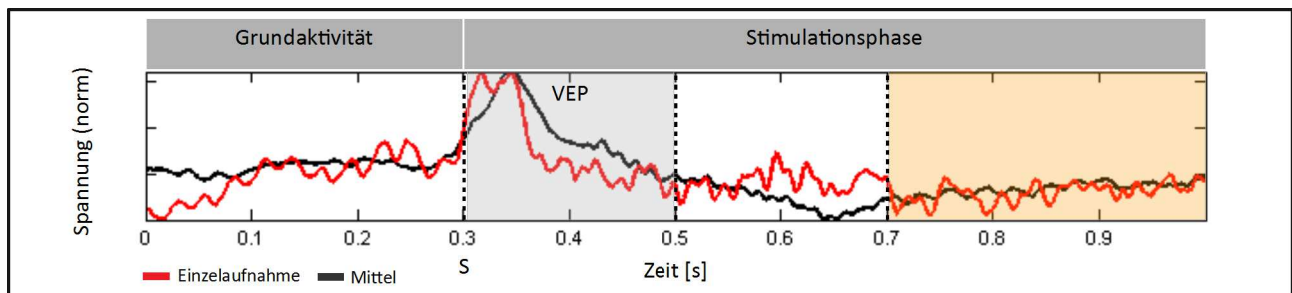
$$C_{xy}(f) = |P_{xy}(f)|^2 / (P_{xx}(f) \cdot P_{yy}(f)) \quad (11)$$

$$P_{xx}(f) = \langle P_{xxT}(f) \rangle \quad (12)$$

$$P_{xy}(f) = \langle P_{xxT}^*(f) \cdot P_{yyT}(f) \rangle \quad (13)$$

$$\Delta t = \phi / (2\pi f) \quad (14)$$

Übergänge zwischen Stimulationsphasen weisen oftmals transiente Signalverläufe auf, die im vorliegenden Datenmaterial als visuell evozierte Potentiale (VEPs) bezeichnet werden. VEPs werden in der klinischen Encephalographie diagnostisch zur Untersuchung der Intaktheit des visuellen Signalwegs genutzt. Bei der Spektralanalyse des evozierten Signalverlaufs stellt das initiale VEP allerdings, aufgrund seiner hohen Amplitude, einen systematischen Fehler im niedrigen Frequenzbereich dar. Die Bestimmung der mittleren Leistung und Kohärenz während der Stimulationsphase erfolgt daher in den letzten 300 ms der Stimulation unter Ausschluss des VEPs nach Stimulationsbeginn (Abbildung 19).



**Abbildung 19:** A) Einzelner (rot) und gemittelter (schwarz) Signalverlauf des lokalen Feldpotentials (LFP) einer ECoG-Elektrode von Area 18. Die stationäre, transiente Spannungsänderung (graues Zeitfenster) nach Stimulations-Onset (S) wird als visuell evoziertes Potential (VEP) bezeichnet. Die Analyse der spektralen Signalleistung in der Stimulationsphase (oranges Zeitfenster = 300 ms) erfolgte unter Ausschluss des VEPs.

Die Bestimmung der Häufigkeit von Spikes in Form von Feuerraten (Hz) und deren Korrelation mit der Intensität einer Stimulation sowie dem Verhalten eines Versuchstieres bildet die Basis einer deskriptiven Statistik für die Beschreibung neuronaler Zellpopulationen (Adrian, 1928; Gerstein & Kiang, 1960; Rieke & Warland, 1999; Dayan & Abbott, 2001). Die Basis eines neuronalen Spikes ist in der Regel zeitlich breiter als die Stelle seiner höchsten Amplitude. Das bedeutet, dass der Hauptteil der Signalenergie eines Spikes im niederfrequenten Bereich liegt, was die Detektion über die Frequenzdomäne praktisch unmöglich macht. Die zeitliche Positionsbestimmung von Spikes in Signalverläufen ist weiterhin Teil andauernder

Methodenforschung und erfolgte in dieser Arbeit mit dem automatisierten Ansatz einer kontinuierlichen Wavelet-Transformation in Kombination mit einem bayesianischen Wahrscheinlichkeitsmodell zur Form- und Positionsbestimmung (Nenadic & Burdick, 2005; Benitez & Nenadic, 2008). Wavelets sind wellenartig verlaufende Funktionen, deren Parameter eine amplitudinale und temporale Anpassung ermöglichen und somit, im Gegensatz zu kontinuierlichen Filtern, als zeitlich lokales Filterobjekt verwendet werden können. Als Wavelet-Funktion dient in dieser Arbeit ein orthogonales Daubechies-Wavelet zweiter Ordnung (Nenadic & Burdick, 2005; Benitez & Nenadic, 2008). Die Konvolution des neuronalen Spike - Signals mit dem formspezifischen Wavelet-Objekt erzeugt eine transformierte Domäne aus Koeffizienten, die für Rauschsignale zufallsverteilt sind und somit uniform um Null streuen. Im Falle transienter Signalanteile weichen diese dagegen signifikant von Null ab, werden statistisch als Ausreißer behandelt und können somit zur Detektion eingesetzt werden. Um die Anzahl der abgeleiteten neuronalen Zellen („Units“) zu schätzen, wurden die Spikes sortiert. Als Basis dienen an dieser Stelle die „Principal Component Analyse“ (PCA), mit deren Hilfe zunächst die Wellenformen aller detektierten Spikes auf ihre Hauptmerkmale („Feature“) in ihrer Dimension reduziert, was einer Transformation in eine aus Merkmalskomponenten bestehende Feature-Domäne entspricht. Die ersten drei beschreibenden Komponenten jedes Spikes wurden einem K-Means-Algorithmus übergeben. Das Ergebnis von K-Means-Algorithmen hängt von der Angabe einer Anzahl erwarteter Cluster, sowie der Art der Initialisierung der Clusterzentren ab. Um ein robustes Ergebnis zu erhalten, wurden diese über >10 Perioden mit ansteigender Clusteranzahl trainiert. Aus jeder Iteration wurde jene Clusterkombination gewählt, deren zugeordnete Merkmalskomponenten im Mittel die geringste euklidische Distanz zum Clusterzentrum aufwiesen. Der Schätzwert für die Anzahl möglicher Cluster, und somit die Anzahl der „Units“, wurde aus dem Wendepunkt des abfallenden Kurvenverlaufs der Distanzwerte als Funktion der Clusteranzahl bestimmt (Dai et al., 2008; Sukiban et al., 2019).

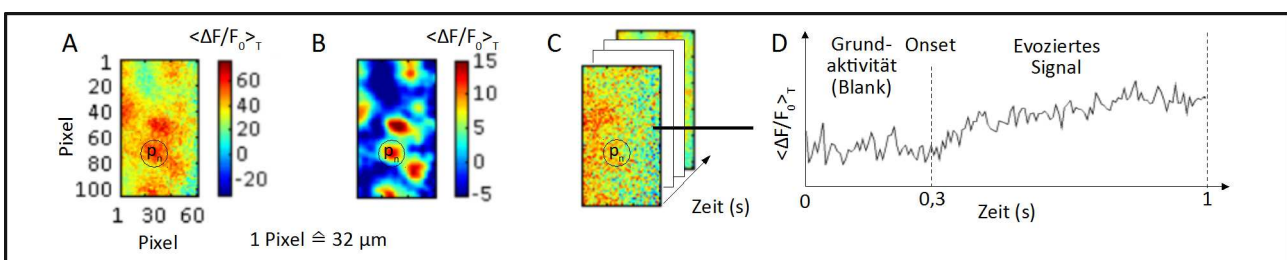
## **6.8 Histologie**

Nach Beendigung der physiologischen Ableitungen wurden die Tiere mit einer Überdosis Pentobarbital (Nembutal®) euthanasiert und transkardial mit Paraformaldehyd (4% PFA, pH 7,4) perfundiert. Danach wurden die Hirne entnommen und bis zum Zeitpunkt der histologischen Aufarbeitung in der Fixierungslösung gelagert. Vor der Weiterverwendung wurde das Gehirn schrittweise in eine 10-30 % Succroslösung in 0,1 M Phosphatpuffer überführt, bis die Lösungen vollständig in das Gewebe diffundiert waren. Von dem auf -60°C heruntergekühlten Gewebe wurden mit einem Rotationsmikrotom (Supercut 2050, Reichert-Jung, München) 60 µm dicke Koronarschnitte angefertigt. Die einzelnen Schnitte wurden vor der Färbung in 0,05% TBS pH 7,4 (Tris-buffered-saline) gelagert. Die Färbung nach Nissl mit Kresylviolett (1,5

mg Kresylviolett in 98 ml destilliertes Wasser + 1 ml 1 Mol Natriumacetat [0,82 g in 10 ml H<sub>2</sub>O] + 1 ml 6 % Essigsäure [60 µl in 940 µl H<sub>2</sub>O]), welches sich in basophilen Zellkörperbestandteile wie die DNA- und RNA-Moleküle und die Struktur des endoplasmatischen Retikulums einlagert (Reinoso-Suárez, 1961), ermöglicht die Unterscheidung der Kortexschichten nach ihren zytoarchitektonischen Merkmalen wie neuronalen Zelldichte und Zellkörpergröße.

## 7. Ergebnisse

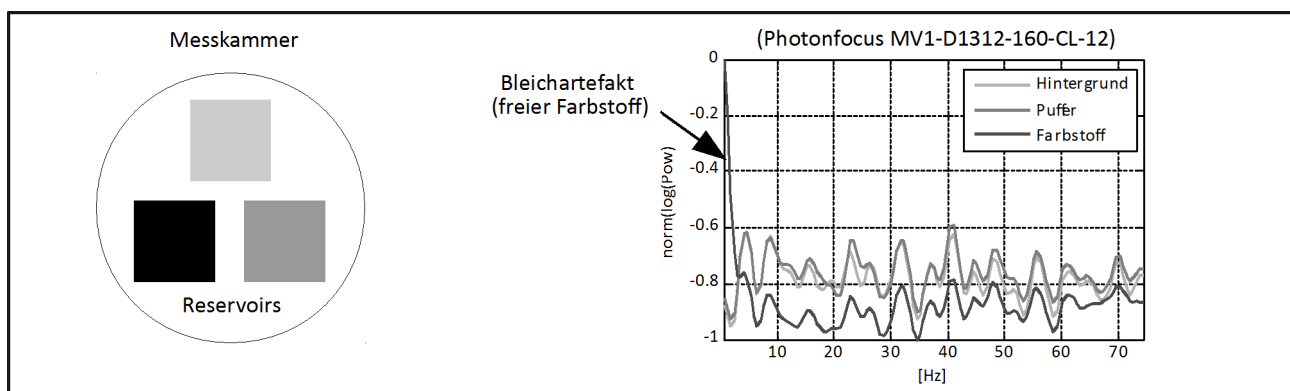
Im Folgenden werden zunächst Begriffe bezüglich der Darstellung der untersuchten Datensätze definiert und die Bereinigungs- und Normalisierungsmethode zur Reduktion von Rauschsignalen in den optischen Daten überprüft. Anschließend werden Grundeigenschaften der untersuchten Kortexareale aufgezeigt, um die weitere Analyse auf Niveau von Einzelaufnahmen einzuleiten. Optische Aufnahmen, die neuronale Aktivität zeigen, werden im Folgenden als Karte bezeichnet. Eine Aufnahmeserie mehrerer Karten unter einer Stimulusbedingung wird als „Singletrial“ bezeichnet. Gemittelte Karten einer Stimuluskonfiguration über mehrere Trials und Messblöcke bilden eine optimale Karte. Im Folgenden wird zunächst ein Überblick der optischen Daten bezüglich ihrer raum-zeitlichen Darstellung und Bereinigung gegeben. Anschließend werden die optischen Daten sowie ihre Interaktion mit spontan wechselnden globalen Aktivitätsphasen und die Trial-Trial-Variabilität betrachtet. Die Darstellung der optischen Ergebnisse erfolgt zum einen über zweidimensionale Aufnahmen (Karten), wobei der Grad der Aktivierung von Kolumnenpopulationen durch verschiedene Stimulationsmuster in Area 18 in Falschfarben von blau nach rot einer zunehmenden Depolarisation entspricht. Abgesehen von der Bereinigung der optischen Daten von den in Kapitel 6.6 aufgeführten Störquellen, werden die VSDI-Karten in dieser Arbeit ohne weitere Prozessierung analysiert (Abbildung 20, A und räumlich gefilterte VSDI-Karten verwendet (Abbildung 20, B), was entsprechend vermerkt wird. Zum anderen wird der Aktivierungsgrad der Karten als räumlich gemittelter, zeitlicher Signalverlauf der gesamten Karte für Singletrials ( $\langle \Delta F/F_0 \rangle_T$ ) sowie über alle Trials (T) gemittelte Karten ( $\langle \Delta F/F_0 \rangle_T$ ) oder in Einzelpositionen ( $p_n$ ) dargestellt und allgemein als Populationsaktivität bezeichnet (Abbildung 20). Insgesamt wird eine Kortexfläche von ca. 3,2 x 2 mm (1 Pixel entspricht 32  $\mu$ m) des Kortexareals 18 in vier adulten Katzen optisch und über ECoG-Ableitung, sowie der PMLS-Kortex über Mikroelektrodenableitungen dargestellt (112511 / 092413 / 090214 - rechte Hemisphäre, 030512 - linke Hemisphäre).



**Abbildung 20:** Über alle Trials sowie zeitlich gemittelte, ungefilterte (A) und räumlich gefilterte (B) VSDI-Karten von Area 18. In Falschfarben ist der Grad der Aktivierung dargestellt. Die Populationsaktivität wird entweder als räumlich gemittelte Aktivität der gesamten Karte oder von gemittelten Einzelbereichen ( $p_n$ ) definiert (C) und als zweidimensionaler Signalverlauf dargestellt (D).

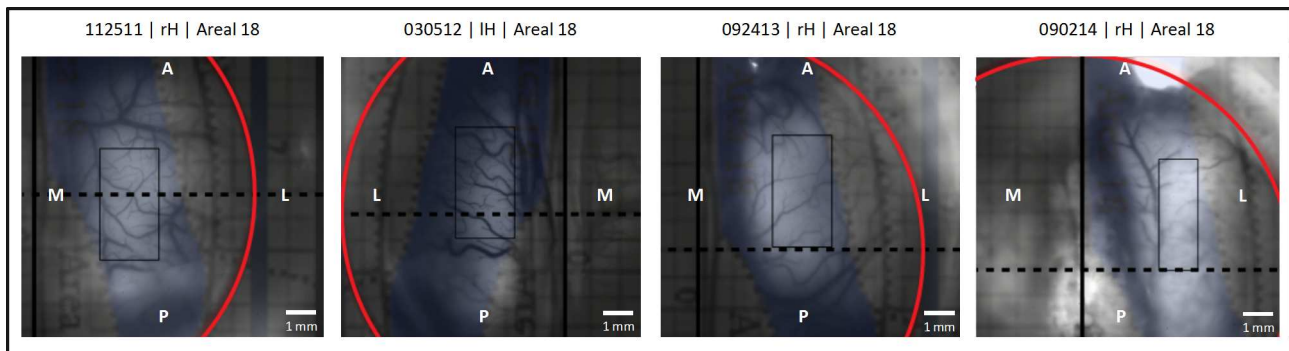
## 7.1 Bereinigung der optischen Daten

Zur Charakterisierung des Bleichverhaltens und der technischen Störquellen in den optischen Daten wurde zunächst ein Kontrollexperiment durchgeführt. Dazu wurde zeitgleich die Pufferlösung, der im Puffer gelöste Farbstoff und die freie Fläche des Testreservoirs unter experimentellen Bedingungen, d.h. mit allen eingeschalteten peripheren Geräten optisch aufgenommen. Technisch bedingte Oszillationen treten in der Regel als Interferenz n-ter Ordnung der ursächlichen Störfrequenz auf, wie es beispielsweise im Fall der Netzfrequenz vorkommen kann. Das hier verwendete Kamerasystem der Firma „Photonfocus“ zeichnet sich dabei, wie angegeben, selbst ungekühlt durch sein geringes, technisches Rauschspektrum aus. Bei der Bereinigung der optischen Daten wurde daher nur die Komponente der lokalen Netzfrequenz (50 Hz) in das lineare Model aufgenommen. Wie erwartet ist der Effekt des photodynamischen Bleichens des Farbstoffes als langsame Pseudo-Oszillation im Leistungsspektrum sichtbar (Grinvald et al., 1982).



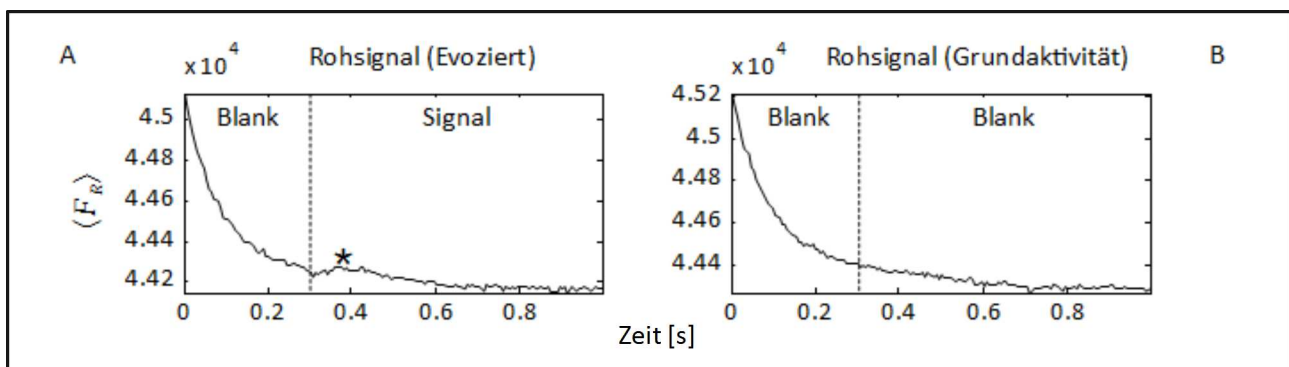
**Abbildung 21:** Über 64 Trials gemittelte Signalleistung für jedes simultan aufgenommene Reservoir der Messkammer. Kameraeinstellung: 150 Hz, 1024x990 Pixel, Belichtungszeit 0.01 ms, Raumtemperatur.

Aufgrund der Wölbung des Kortex der Katze liegen Pixel der Randbereiche der optischen Aufnahmen von Area 18 außerhalb der Fokus- und optimalen Illuminationsebene der Kamera, wodurch sich die analysierbare Fläche innerhalb der Aufnahmekammer reduziert. Um einen sinnvoll ableitbaren Bereich zu definieren, wurden Gefäßbilddaufnahmen mit einem gleichen topographischen Koordinatensystem (Reinoso-Suárez, 1961) überlagert, welches auch zur Positionierung der Messkammer während der Kraniotomie verwendet wurde (Abbildung 22). Ausgehend von der Innenkante der Messkammer wurde die Ausbreitung von Area 18 eingezeichnet. Anhand der Optimierung der Ausleuchtung, einer geringen Gefäßdichte und der geringsten kortikalen Wölbung wurde eine rechteckige Region für die weitere Analyse festgelegt.



**Abbildung 22:** Dorsale Übersicht der abgeleiteten Hemisphären mit Innenkante der Messkammer (rot). Mit einem topographischen Hirnatlas der Katze wurde der zugängliche Bereich von Area 18 eingezeichnet (blau). Die ausgewertete Teilregion ist umrandet. Die Linie markieren den Mittelpunkt der Messkammer. Gefäßbild der rechten Hemisphäre der Katze (Dorsalansicht). A - anterior, P - posterior, M – medial, L-lateral. Der Maßstabsbalken entspricht 1 mm.

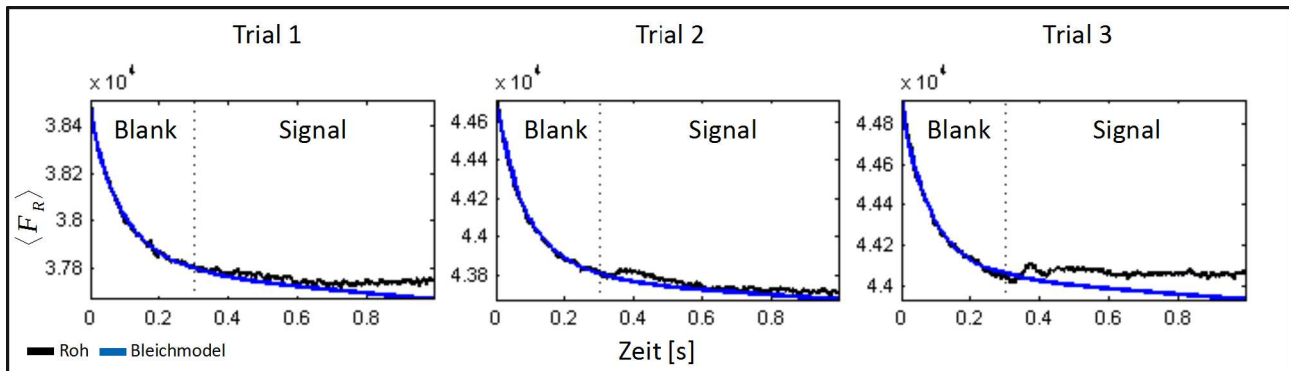
Die neuronale Aktivität wird durch technische, biologische und phototoxische Störsignale räumlich und zeitlich überlagert. Die Bleichdynamik des VSDI-Farbstoffes und Herzschlagartefakte stellen die prominentesten Störquellen dar. In vivo dominiert das photodynamische Bleichen des membrangebundenen Farbstoffes den gesamten Verlauf des rohen, räumlich gemittelten VSDI-Signals ( $\langle F_R \rangle$ ) (Abbildung 23), insbesondere in den ersten 300 ms. Das Herzschlagartefakt ist, anders als beispielsweise bei Affen beschrieben (Chemla et al., 2017; Reynaud et al., 2011), nicht unmittelbar identifizierbar. Die Stimulationsantwort (Abbildung 23 A) als Zunahme des Fluoreszenzsignals kurz nach Beginn der Stimulation ist dagegen im Vergleich zur Grundaktivität (Abbildung 23 B) bereits im Rohsignal deutlich zu erkennen.



**Abbildung 23:** Zeitlicher Verlauf des räumlich gemittelten rohen VSDI-Signals ( $\langle F_R \rangle$ ) während der Stimulation (A) und der Grundaktivität (B). Die gestrichelte Linie markiert den Start der Stimulation und (A,\*) die Stimulationsantwort.

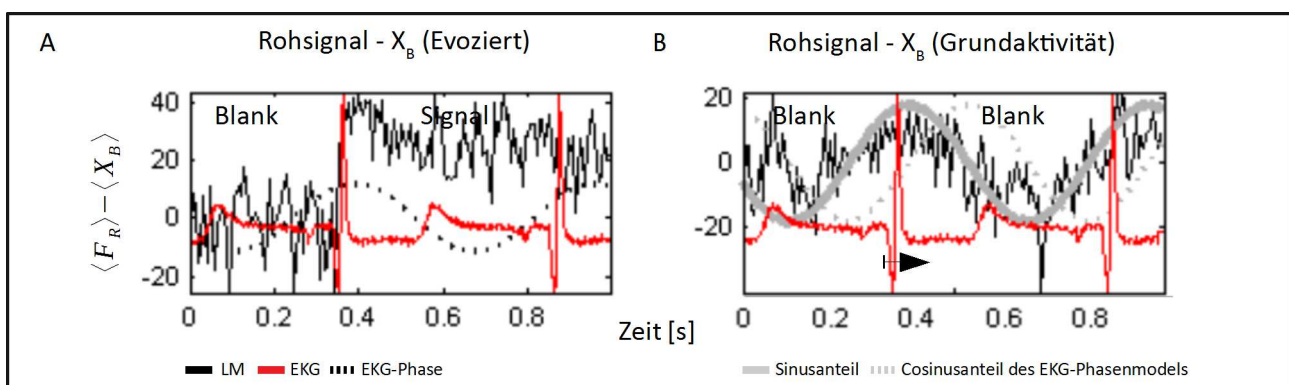


Abbildung 24 zeigt am Beispiel von drei Singletrials eines Stimulationsmusters die räumlich gemittelte, evozierte Stimulationsantwort im rohen VSDI-Signale ( $\langle F_R \rangle$ , schwarz) im Vergleich zur regressiv angenäherten mittleren Bleichkomponenten ( $\langle X_B \rangle$ , grau). Die Bleichdynamik des Farbstoffes folgt der angenommenen exponentiellen Abnahme und kann mit Hilfe des LM-Models vom Anstieg der Stimulationsantwort unterschieden werden.



**Abbildung 24:** Beispiel für die schrittweise Reduktion der Rauschkomponenten aus dem VSDI-Rohsignal. Die gestrichelte Linie markiert den Start der Stimulation. Zeitlicher Verlauf des räumlich gemittelten rohen VSDI-Signals ( $\langle F_R \rangle$ , schwarz) und die durch das LM-Model regressiv angepasste Bleichkomponente  $X_B$  (blau) am Beispiel von drei Singletrials für ein Stimulationsmuster.

Um die über das LM-Model bestimmte Phase und Frequenz der oszillative Herzschlagkomponente  $X_H$  zu verifizieren, wurde diese mit den EKG-Phasen verglichen (Abbildung 25). Es zeigt sich, dass in stimulierten, wie auch in Signalverläufen der Grundaktivität, von denen ausschließlich die Bleichkomponente  $X_B$  subtrahiert wurde, eine direkte Kohärenz der modellierten Herzschlagkomponenten mit dem simultan aufgenommenen EKG-Verlauf besteht.



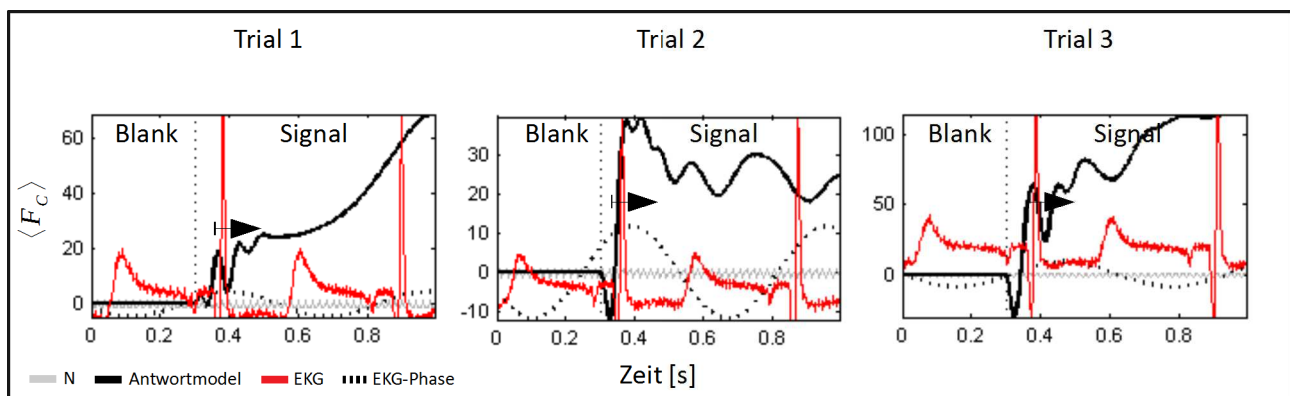
**Abbildung 25:** Beispiel für die schrittweise Reduktion der Rauschkomponenten aus dem VSDI-Rohsignal. Die gestrichelte Linie markiert den Start der Stimulation. Rohsignale nach Subtraktion der Bleichkomponente  $X_B$ . A) Evozierter Signalanstieg. B) Grundaktivität. Bereinigte Signalverläufe mit synchronisiertem EKG (rot) und Herzschlagkomponente  $X_H$ . Pfeil: Phasenunterschied von ca. 100-150 ms zwischen EKG-Ausschlag und dem vaskulären Herzschlagartefakt im Signalverlauf des VSDI-Signals.

Das Herzschlagartefakt im VSDI-Signal erreicht eine maximale Amplitude zeitversetzt um etwa 100-150 ms nach dem obersten Umschlagpunkt (R-Zacke) des Herzschlags. In Abbildung 25 B wurden zur Veranschaulichung der in Kapitel 6.6 erwähnten Phasenkorrektur durch Gewichtung der in diesem Fall dominierende Sinus-, sowie Kosinusanteil der Herzschlagkomponente getrennt aufgetragen. Die aus dem LM-Model rekonstruierten mittleren Herzfrequenzen sind in Tabelle 4 aufgetragen und entsprechen im Mittel den aus dem EKG bestimmten Raten.

	112511	030512	092413	090214
Herzschlag [Hz]	$2,19 \pm 0,42$	$2,42 \pm 0,34$	$1,37 \pm 0,24$	$2,05 \pm 0,36$

**Tabelle 4** : Gemittelte Herzschlagfrequenzen und Standardabweichung als Ergebnis des LM-Modells.

Nach der initialen Bestimmung des mittleren Verlaufs der Bleichkomponenten  $X_B$ , sowie des mittleren Herzschlags und der Antwortkomponenten  $X_R$  für jede Stimulationsphase des laufenden Trials wird das Gesamtmodell, wie in Kapitel 6.6 beschrieben, regressiv an das Rohsignal angenähert. Abbildung 26 zeigt am Beispiel der in Abbildung 24 aufgeführten Singletrials die mittleren durch das LM-Model gewichteten Antwortkomponenten  $X_R$  (D, rot), technisch bedingte Störquellen  $X_N$  (D, schwarz), sowie den oszillatorischen Verlauf des Herzschlags  $X_H$  (D, grau) im Vergleich zum zeitlichen Verlauf des EKG.



**Abbildung 26:** Beispiel für die schrittweise Reduktion der Rauschkomponenten aus dem VSDI-Rohsignal sowie die Flexibilität der Antwortkomponenten  $X_R$  (schwarz) über verschiedene Trials. Die gestrichelte Linie markiert den Start der Stimulation. Herzschlag  $X_H$  (rot), 50 Hz Rauschen  $X_N$  (grau).

Durch Subtraktion aller Komponenten verbleiben die Residuen, die idealerweise nur noch aus Anteilen der spontanen Aktivität sowie weißem Rauschen bestehen sollten. Mittels des Durbin-Watson-Test wurden die

Residuen gegen die Modellkomponenten auf Autokorrelation getestet (Tabelle 5). Es liegt keine Autokorrelation vor, wenn die Teststatistik im Bereich  $1 < d < 2$  ( $p > 0,05$ ) liegt.

	112511	030512	092413	090214
DW-Test (d)	$1,83 \pm 0,27$	$1,45 \pm 0,24$	$1,41 \pm 0,22$	$1,91 \pm 0,14$

**Tabelle 5** : Fitstatistik – Residuen. Test auf Autokorrelation für  $1 < d < 2$  ( $p > 0,05$ ).

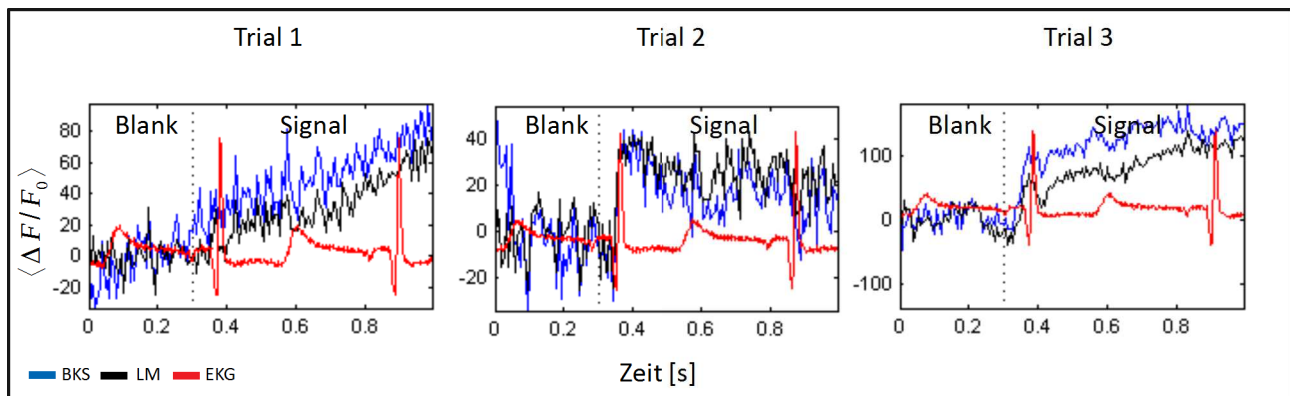
Um die Güte der Regressionsmodelle zu quantifizieren, wurde zunächst ein F - Test zur Überprüfung der gemeinsamen Signifikanz aller Regressoren des entsprechenden Modells durchgeführt. Hierbei werden Nullhypothese  $H_0$  und Alternativhypothese  $H_A$  wie folgt spezifiziert:  $H_0: \beta_j = 0$  für alle  $j \in \{1, 2, \dots, k\}$ ,  $H_A: \beta_j \neq 0$  für mindestens ein  $j \in \{1, 2, \dots, k\}$  bei  $k$  unabhängigen Variablen mit Regressionskoeffizient  $\beta$  im Modell. Falls der p-Wert zur F-Statistik unterhalb eines gewählten Signifikanzniveaus  $\alpha = 5\%$  liegt, kann die  $H_0$  verworfen werden. Interpretieren lässt sich dies wiederum als potentielle Abhängigkeit der abhängigen Variable von mindestens einem der aufgenommenen Prädiktoren. Des Weiteren wurde das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  als Indikator für die Varianzaufklärung durch das Modell betrachtet. Hierbei wird gemessen, um wieviel Prozent sich die Residuenquadratsumme verringert, wenn neben dem Achsenabschnitt weitere erklärende Variablen ins Modell aufgenommen werden. Entsprechende Ergebnisse für F-Statistik und  $R^2$  werden in Bezug auf die unterschiedlichen Experimente in Tabelle 6 aufgeführt. Es wird ersichtlich, dass der p-Wert zur F-Statistik über alle Experimente hinweg deutlich unter dem gewählten Signifikanzniveau liegt und somit mindestens eine der erklärenden Variablen einen signifikanten Einfluss auf die abhängige Variable hat. Zudem lässt sich aus den  $R^2$ -Werten für die Experimente 112511, 030512 und 092413 ableiten, dass ein Anteil von über 90 % der Gesamtvarianz durch das spezifizierte Modell erklärt werden kann. Für Experiment 090214 wird dagegen ein deutlich geringeres Bestimmtheitsmaß erzielt.

Fitstatistik	112511	030512	092413	090214
$R^2$	$0,92 \pm 0,02$	$0,94 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,12$
F	$119,27 \pm 29,71$	$163,11 \pm 28,32$	$349,98 \pm 171,19$	$16,92 \pm 9,17$
p	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$

**Tabelle 6** : Fitstatistik zur Beurteilung der Güte der Regression.

Wie bereits in Kapitel 6.6 erwähnt, werden selbst in aktuellen Veröffentlichungen VSDI-Daten oft noch mit der Blanksubtraktion (BKS-Methode) bereinigt. In verschiedenen Arbeiten (Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017) konnte bereits gezeigt werden, dass sich die Trial-Trial-Variabilität durch diesen Schritt erhöht. Abbildung 27 zeigt am Beispiel der bisher verwendeten Singletrials Unterschiede zwischen den mittels LM

(schwarz) und BKS (blau) bereinigten, mittleren Signalverläufen ( $\langle \Delta F/F_0 \rangle$ ). Durch die LM-Methode wird zum einen das Bleichen des Farbstoffes besser entfernt (Abbildung 27, Trial 2). Zum anderen weisen die mittels BKS aufgereinigten Karten Unterschiede in ihren räumlich gemittelten Populationsamplituden und abweichende oszillative Signalverläufe im Vergleich zu den LM-Signalverläufen auf.



**Abbildung 27:** Beispiele für die schrittweise Reduktion des Rauschens aus dem Rohsignal. Die gestrichelte Linie markiert den Start der Stimulation. Rekonstruiertes Antwortverhalten unter Verwendung der LM-Methode (schwarz) und der BKS-Methode (blau) im Vergleich. Das EKG ist in rot dargestellt.

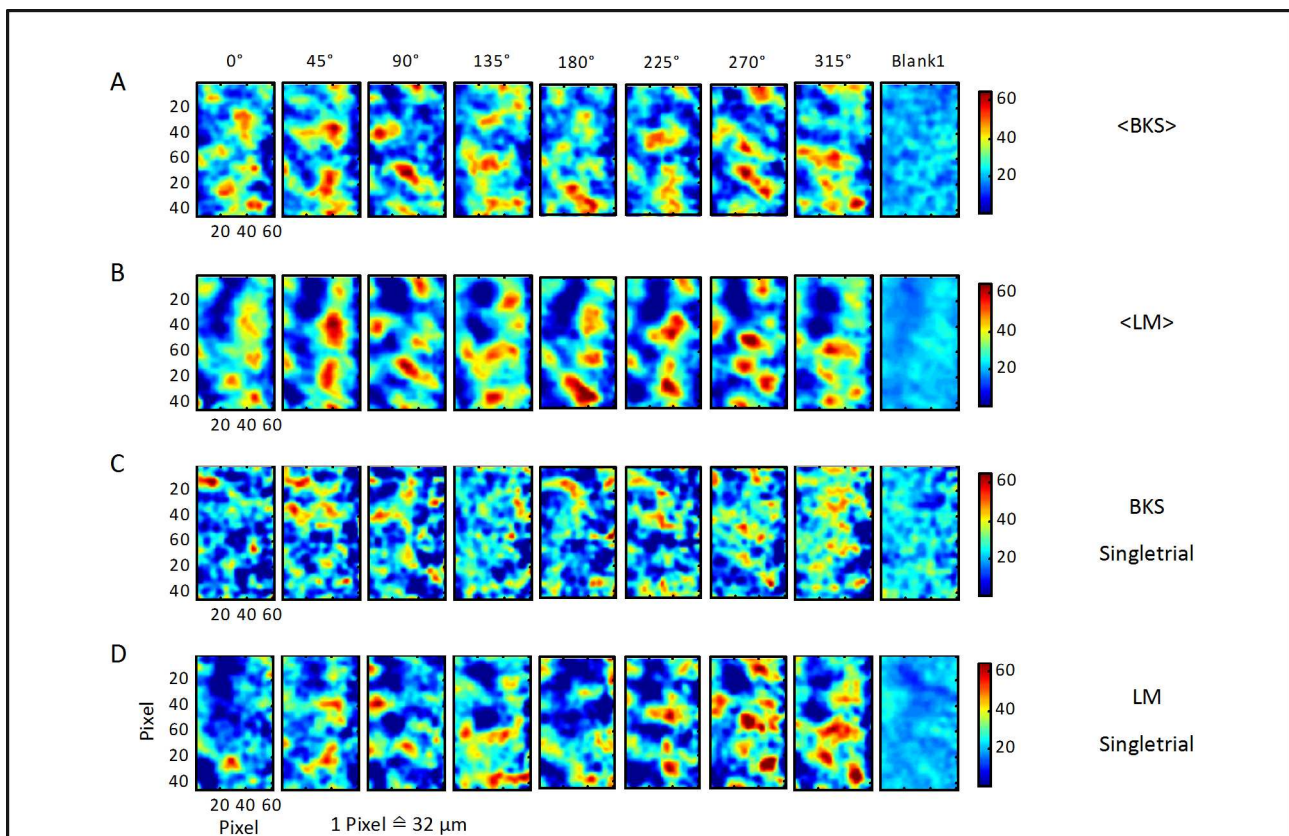
Die Ähnlichkeit der Leistungsspektren der Rohsignale ohne Bleichkomponente zu denen der BKS- bzw. LM-Methode wurden über die Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung (RMSE) bestimmt (Tabelle 7) und ist im Fall der BKS aufgereinigten VSD-Daten über alle Trials um ein vielfaches erhöht im Vergleich zu LM aufgereinigten VSD-Daten. Da die BKS-Methode die pro Trial oder über mehrere Trials gemittelte Grundaktivität als Normalisierungsbasis verwendet, wird der zeitliche Signalverlauf und somit das Leistungsspektrum der auf diese Weise prozessierten VSDI-Signale durch spontan aktive Phasen oder sonstige Signalveränderungen in der Grundaktivität verzerrt (Reynaud et al., 2011).

Leistungsspektren	112511	030512	092413	090214
RMSE – Roh vs. BKS	$33,51 \pm 27,71$	$27,11 \pm 24,71$	$39,79 \pm 37,2$	$19,03 \pm 15,58$
RMSE – Roh vs. LM	$1,23 \pm 0,52$	$1,01 \pm 0,45$	$0,92 \pm 0,49$	$0,33 \pm 0,16$

**Tabelle 7 :** RMSE der Leistungsspektren: Rohsignal- $X_B$  vs. BKS und Rohsignal- $X_B$  vs. LM. Fehlerangabe als Standardabweichung.

Die Auswirkung auf die räumliche Struktur der VSDI-Karten wird am Beispiel von Experiment 030512 (linke Hemisphäre, Area 18,  $N_{\text{Trials}}=13$ ) betrachtet. Zur besseren Veranschaulichung werden die räumlich gefilterten VSDI-Karten verwendet, die in Abbildung 28 zeitlich über die stimulierte Aufnahmephase (0,3 – 1 Sekunde) für jedes in Kapitel 6.2 beschriebene Stimulationsmuster gemittelt wurden. Abbildung 28 A-B zeigt den

strukturellen Vergleich zwischen BKS und LM von über alle Trials hochgemittelten Karten, wohingegen Abbildung 28 C-D den Vergleich für ein Singletrial zeigt. Die räumlichen Fluktuationen für LM aufgereinigte VSDI-Karten nehmen sowohl für hochgemittelte, als auch für Singletrialaufnahmen ab. Insbesondere auf Singletrialniveau wird deutlich, dass durch die BKS-Methode strukturelle Informationen stark verfälscht werden und verloren gehen können. Die mittels LM-Methode prozessierten Karten weisen dagegen selbst auf Singletrialniveau hohe strukturelle Ähnlichkeit mit den hochgemittelten Karten auf.



**Abbildung 28:** Vergleich von BKS und LM bereinigten evozierten VSDI-Karten. A-B) Über alle Trials gemittelte Karten für zeitlich gemittelte Stimulationsantworten und Grundaktivität (Blank). C-D) Singletrialkarten.

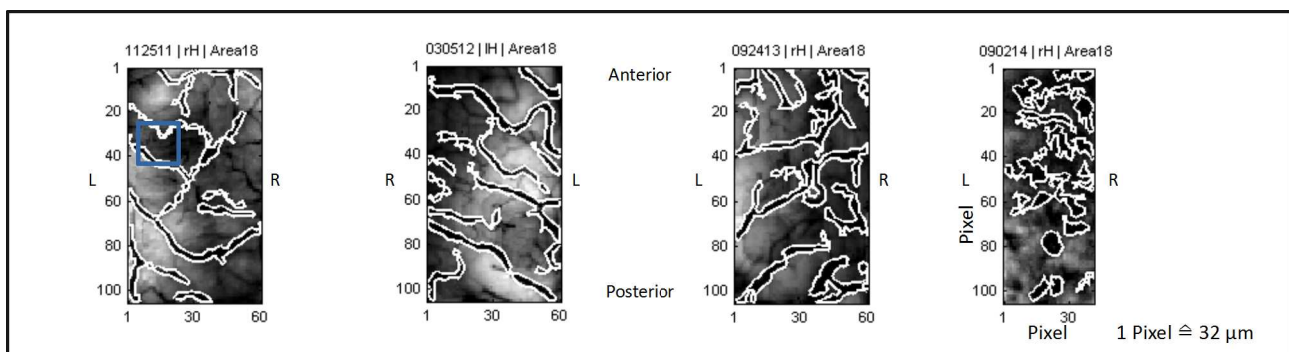
Die Trial-Trial-Variabilität wurde für jede einzelne, zeitliche VSDI-Karte (räumlich gemittelt  $\langle \Delta F/F_0 \rangle$ ) innerhalb der stimulierten Aufnahmephase (0,3 – 1 s) als mittlere Standardabweichung ( $\langle \sigma \rangle$ ) über alle Trials (T) berechnet (Tabelle 8). Als Basis dienen hier die räumlich ungefilterten VSDI-Karten. Die Trial-Trial-Variabilität der VSDI-Karten ist für die mittels LM bereinigten Signalverläufe über alle Experimente im Mittel hoch signifikant (Mann-Whitney-Test,  $p \ll 0.001$ ) und somit deutlich geringer als für BKS, was in Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Arbeiten steht (Reynaud et al., 2011).

Trial-Trial-Var.	112511	030512	092413	090214
BKS Std. $< \sigma > T$	116,91	119,87	162,99	67,28
LM Std. $< \sigma > T$	30,12	31,43	26,24	15,45
BKS Std./LM Std.	3,89	3,81	6,21	4,35

**Tabelle 8** : Trial-Trial-Variabilität der Stimulationsantwort für BKS und LM als Standardabweichung über alle Trials.

## 7.2 Übersicht Area 18 (*Area occipitalis*)

Die Fokussierung des Kamerabildes unterhalb peripherer Blutgefäße ermöglicht die Signaldetektion in den oberen Kortexschichten. Größere periphere Blutgefäße können durch oxigenierten und desoxigenierten Blutfluss weiterhin einen nicht unerheblichen Einfluss auf den globalen Signalverlauf nehmen. Daher wurden Pixel der prominentesten Gefäßstrukturen aus dem Bildmaterial entfernt. Die Detektion der Gefäße erfolgte auf Basis von Standbildaufnahmen der analysierten Kortexoberfläche, die mit einem 578 nm Grünfilter vor und nach dem Experiment erstellt wurden. Um die globale Ausleuchtung zu normalisieren, wurde das Gefäßbild zunächst mit einem Pillbox-Filter morphologisch geöffnet und die Ergebnismatrix vom Originalbild subtrahiert. Die Kantenerkennung der Gefäßverläufe erfolgte durch Konvolution mit einem kontrastverstärkenden Strukturelement eines Laplace – Filters. Abbildung 29 zeigt die Überlagerung dieser Aufnahmen mit den ermittelten Kantenverläufen. Die innere Pixelfläche wurde räumlich und zeitlich aus allen Analyseschritten entfernt wurde, auch wenn in folgenden Darstellungen der VSDI-Karten die Gefäßstrukturen nicht explizit eingezeichnet sind.

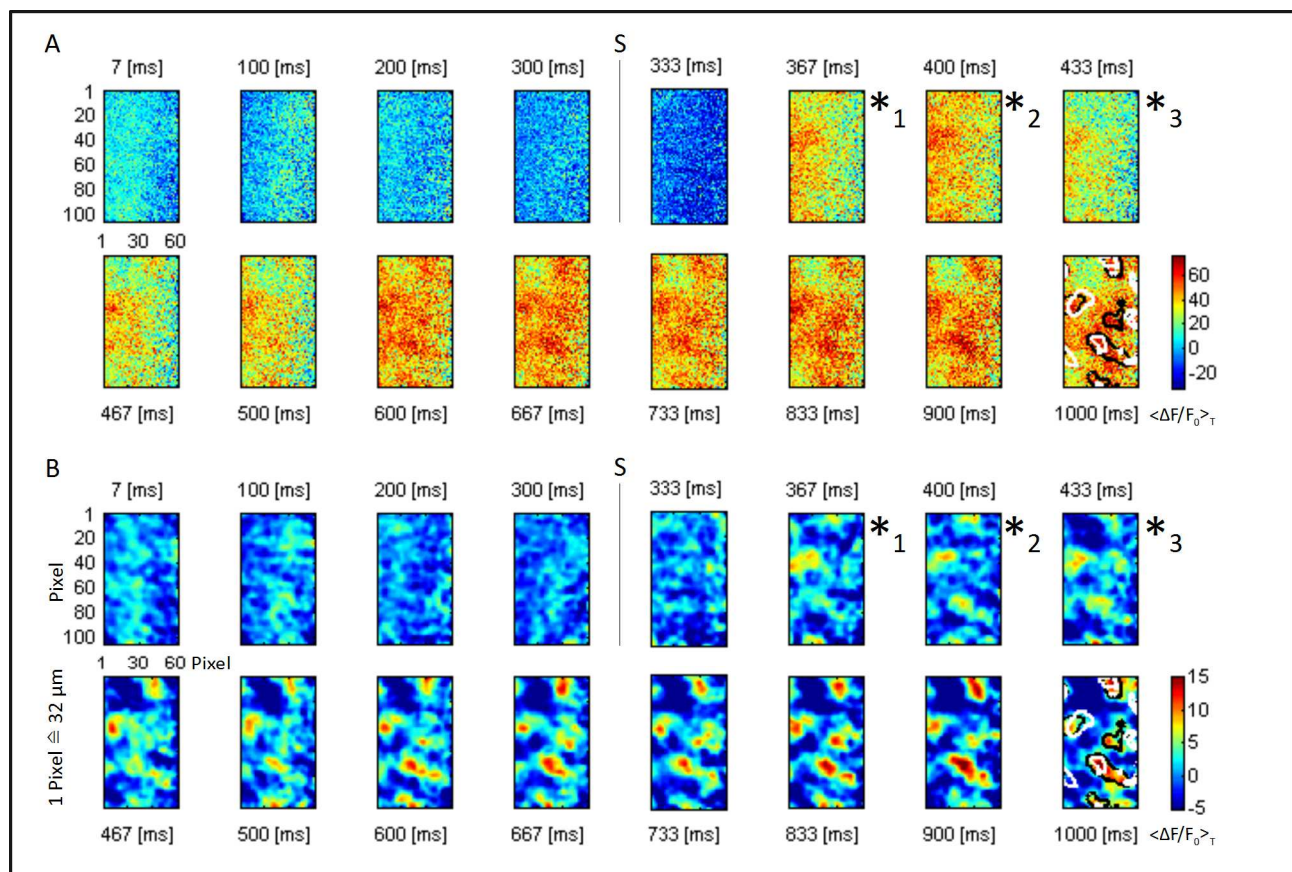


**Abbildung 29:** Standbildaufnahmen des Kortex von Area 18 unter einem 578 nm Grünfilter. Die Detektion der Kantenverläufe peripherer Gefäßstrukturen erfolgte mit einem Laplace-Filter.

Die kolumnäre Aktivität des visuellen Kortex von Wirbeltieren zeigt selbst unter identischen, sich wiederholenden Stimulationsbedingungen eine Variabilität des strukturellen Antwortverhaltens (Arieli et al., 1996; Grinvald et al., 1999; J. Niessing et al., 2005), das bisher als stochastische Rauschsignale interpretiert und, unter Annahme eines linearen Superpositionsprinzips zwischen zufällig auftretendem Hintergrundrauschen und einem repetitiven, stereotypen Antwortsignal, durch Mitteln über mehrere Aufnahmeserien reduziert wurde (Kisley & Gerstein, 1999). Das spezifische, kolumnäre Signal auf einen sich wiederholenden Stimulus sollte so hervorgehoben werden, während die zufällig verteilten Signale aus dem gemittelten Datensatz verschwinden. Diese Annahme trifft jedoch nur zu, wenn man während der Messungen von stationären Zuständen der kortikalen Aktivität ausgeht. Um hoch- bzw. tieffrequente Hintergrundsignale zu entfernen, werden optischen VSDI-Aufnahmen außerdem oft räumlich nach den in



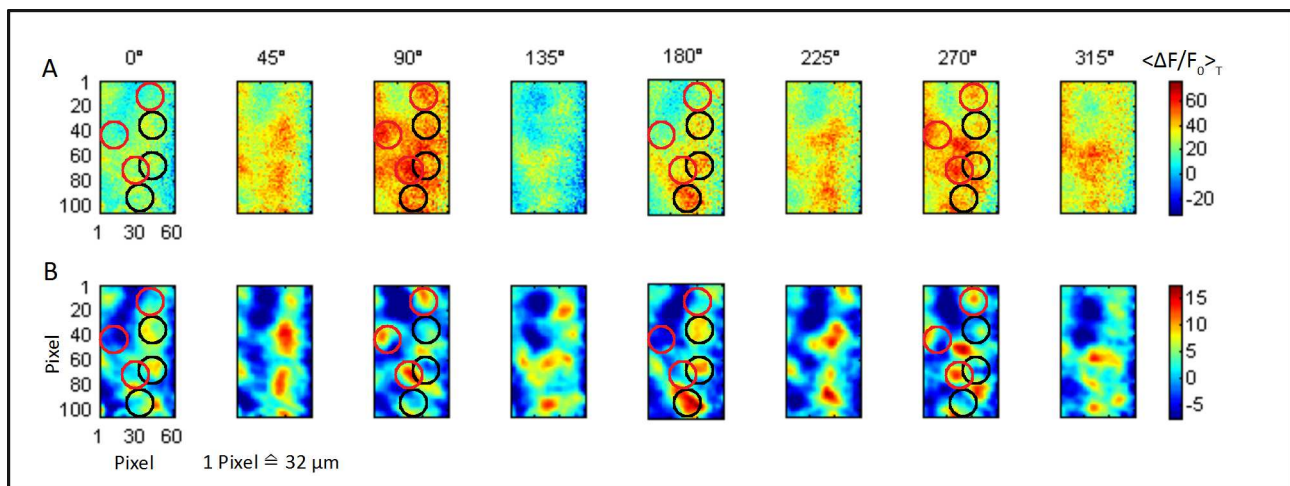
Kapitel 6.6 aufgeführten Filterkriterien für kolumnäre Strukturen Bandpass gefiltert, (Tiefpass = 168  $\mu\text{m}$ , Hochpass = 960  $\mu\text{m}$ ). Abbildung 30 zeigt den raum-zeitlichen Verlauf gemittelter Karten (030512, linke Hemisphäre, Area 18,  $N_{\text{Karten/Stimulation}} = 840$ ) im ungefilterten (Abbildung 30, A) und gefilterten (Abbildung 30, B) Zustand für ein Stimulationsmuster ( $0^\circ$ ). Deutlich ist die Entfernung der globalen Hintergrundaktivität, sowie die Erhaltung lokaler, struktureller Signalanstiege zu erkennen. Nach einer Latenz von etwa 60 ms nach Stimulationsbeginn (Abbildung 30, A) nimmt die Antwortstärke der gesamten Kortexfläche in den räumlich ungefilterten VSDI-Karten zunächst zu (Abbildung 30 A, \*1) und im Zeitfenster zwischen 100 – 200 ms nach Stimulationsbeginn wieder ab (Abbildung 30, \*3). Die gefilterten Karten zeigen 60 ms nach Stimulationsbeginn erste lokale Antwortstrukturen (Abbildung 30 B, \*1). Signalstärke und räumliche Ausbreitung variieren bis 200 ms nach Stimulationsbeginn, bevor eine Stabilisierung in Form einer sowohl lokalen, als auch globalen Gesamtantwort eintritt. Das räumliche Bandpassfiltern der VSDI-Daten wird ausschließlich zur Veranschaulichung von lokalen strukturellen Aspekten verwendet. Davon abgesehen werden in dieser Arbeit grundsätzlich ungefilterte VSDI-Daten verwendet, um die Depolarisation als Ganzes zu charakterisieren.



**Abbildung 30:** Sequenz ungefilterter vs. gefilterter VSD-Karten. Evozierte Aktivität in Area 18 hervorgerufen durch ein bewegtes Balkenmuster (vertikal,  $0^\circ$ ). Etwa 60 ms nach Stimulationsbeginn (S) sind erste kolumnäre Antwortstrukturen zu erkennen.



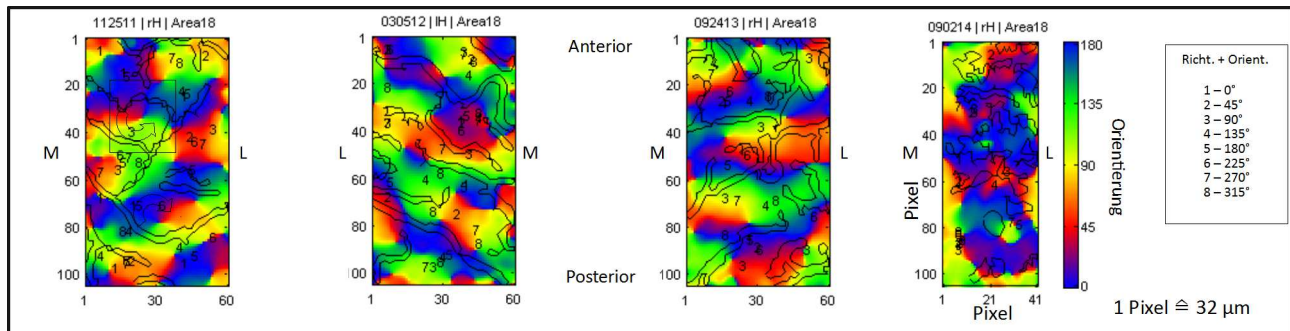
Abbildung 31 zeigt am Beispiel des Experiments 030512 das evozierte Antwortverhalten von neuronalen Populationen einer zeitlich (0.3 – 1s) und über alle Trials gemittelten Aufnahmeserie für jedes Stimulationsmuster ( $0^\circ$  –  $315^\circ$ ). Das biologische Prinzip der strukturellen Ähnlichkeit auf kontralaterale Bewegungsreize mit gleicher Orientierung (z.B.  $0^\circ$  und  $180^\circ$ ) bleibt dabei erhalten, wobei die Antwortstärke primär innerhalb eines gemeinsamen Populationsbereichs fluktuiert. Ein Wechsel aktiver Populationen tritt unter Stimulation mit horizontalen ( $90^\circ, 270^\circ$ , rot) gegenüber vertikalen ( $0^\circ, 180^\circ$ , schwarz) Orientierungsmustern auf.



**Abbildung 31:** Evozierte Aktivität hervorgerufen durch Balkenmuster in vier Orientierungen und acht orthogonalen Bewegungsrichtung. A) Über alle Trials gemittelte, ungefilterte Karten. B) Die selben Karten nach der Bandpassfilterung. Auf horizontale (rot) und vertikale (schwarz) Balken reagierenden Populationen.

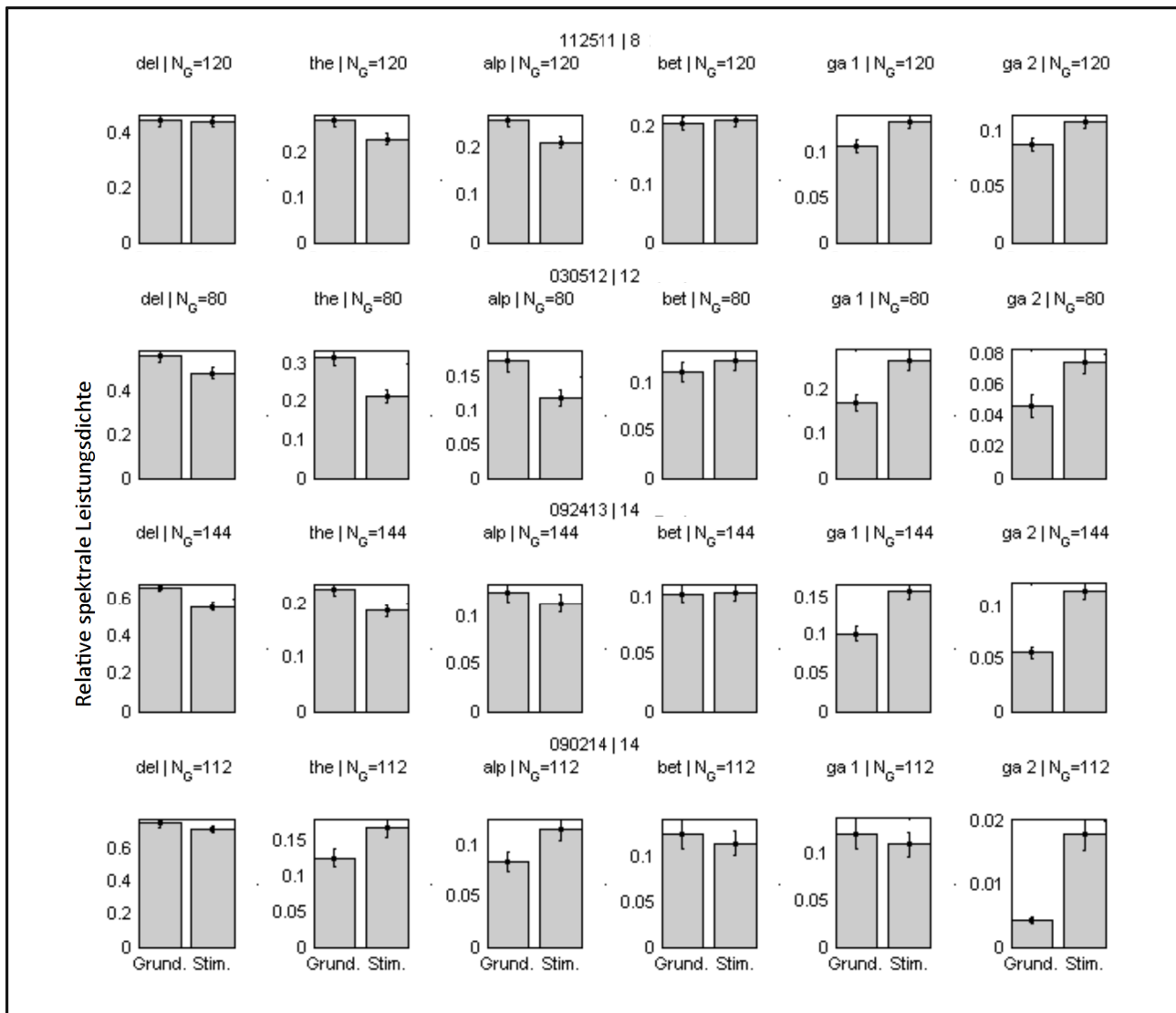
Zusätzlich zur retinotopen Organisation (Kapitel 4.7) weisen die neuronale Populationen des visuellen Kortex von Säugetieren eine regelmäßige Organisation aus sich überlagernden Orientierungs- und Richtungspräferenzen und Abhängigkeiten von Ortsfrequenzen auf (Swindale, 2000). Das stark kontrastierte, bewegte Balkenmuster aktiviert im vorliegenden Fall sowohl orientierungs-, als auch bewegungsspezifische Populationen. Karten mit neuronaler Antwort auf das jeweils kontralateral bewegte Balkenmuster in den vier Hauptorientierungen ( $0^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $135^\circ$ ) wurden gemittelt, um diese Überlagerung zu Gunsten der orientierungsspezifischen Bereiche zu minimieren. Die resultierenden Karten wurden für die folgende Darstellung räumlich bandpassgefiltert. Für jede Hauptorientierung wurde die Antwortstärke pixelweise vektoriell addiert, die Winkel der resultierenden Vektoren farbcodiert und eine Orientierungspräferenzkarte erstellt (Blasdel & Salama, 1986; Grinvald et al., 1986). Gelbe Bereiche stellen horizontale und blaue Bereiche vertikale Orientierungspräferenzen dar (Abbildung 32). Der Vergleich mit den Gefäßmasken zeigt keine strukturelle Überlagerung zwischen den Gefäßverläufen und der Ausbreitung

der Flächenaktivität. Die Singularitäten der Orientierungskolumnen und die zusammenhängende Organisation der Präferenzen, im oder gegen den Uhrzeigersinn in Form von fließenden Übergänge zu nachfolgenden Orientierungen, sind deutlich zu erkennen (Beispiel: Abbildung 32, 112511, Umrandung). Die Nummerierung markiert Strukturbereiche, die auf das Mischsignal aus Richtung und Orientierung des bewegten Balkenmusters reagieren.



**Abbildung 32:** Orientierungspräferenzkarten von Area 18 berechnet aus gemittelten VSDI-Aufnahmen mit eingezeichneten Gefäßverläufen (M = Medial, L = Lateral). Gezeigt sind Orientierungsantworten unter Ausschluss der orthogonalen Richtungsinformation. Gelbe Bereiche stellen horizontale und blaue Bereiche vertikale Orientierungspräferenzen dar. Die Nummerierung markiert Strukturbereiche, die auf das Mischsignal aus Richtung und Orientierung des bewegten Balkenmusters reagieren.

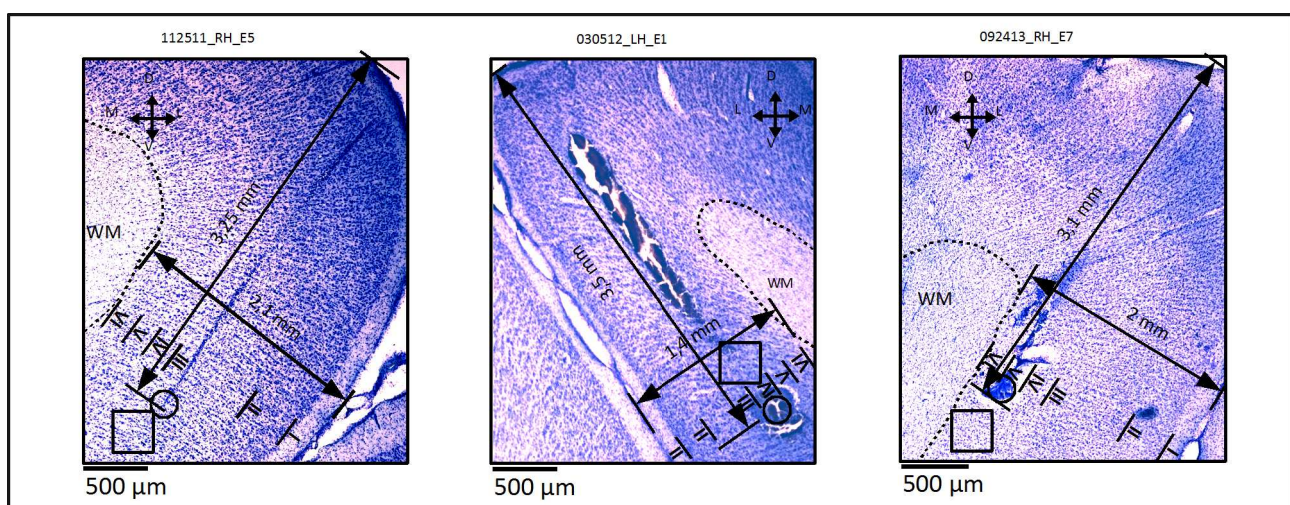
Für die Phasen der Grundaktivität (0 – 0,3 s) und des stationären, evozierten Zeitabschnitt (0,7 – 1 s, ohne die frühe transiente Phase des VEP) wurde die mittlere Leistungsdichte des Signals der Areal18 ECoG-Elektroden bestimmt (Abbildung 33). Die Darstellung erfolgt in Form der Zu- und Abnahmen der jeweils mittleren, physiologisch relevanten Frequenzintervalle. Die Fehlerbalken sind als mittlere quadratische Abweichung (SEM - „square error of mean“) definiert und beschreiben die Präzision des geschätzten Mittelwertes, nicht die Abweichung der Daten. Während der Grundaktivität dominieren Oszillationen im Bereich der Delta-, Theta-, Alpha- und Betafrequenzen. Während der Stimulation steigt die Leistungsdichte in den schnelleren Gammafrequenzen. Die Abweichung in Experiment 090214 wird als Folge einer defekten Verschaltung zwischen ECoG-Elektroden und Interface betrachtet, da auch die in Area 18 implantierten Fadenelektroden ein im Vergleich zu den anderen Versuchen widersprüchliches Ergebnis lieferten. Es sei hier bereits erwähnt, dass die PMLS- und ECoG-Elektroden dieses Experiments mit jeweils eigenem Verstärker mit dem Interface verbunden waren, sodass die PMLS-Elektroden von dem möglichen Defekt ausgeschlossen sind.



**Abbildung 33:** Area 18 ECoG-Elektroden (Versuch\_Elektrodennummer). Über alle Trials ( $N_G$ ) gemittelte relative Leistungsdichte (PSD - „power spectral density“) für physiologisch relevante Frequenzintervalle in Phasen der Grundaktivität (Grund.) und der Stimulation (Stim.). Fehlerbalken beschreiben die mittlere quadratische Abweichung der Präzision des Mittelwerts (Frequenzbänder : del = Delta, the = Theta, alp = Alpha, ga1/ga2 = Gamma).

### 7.3 Übersicht PMLS

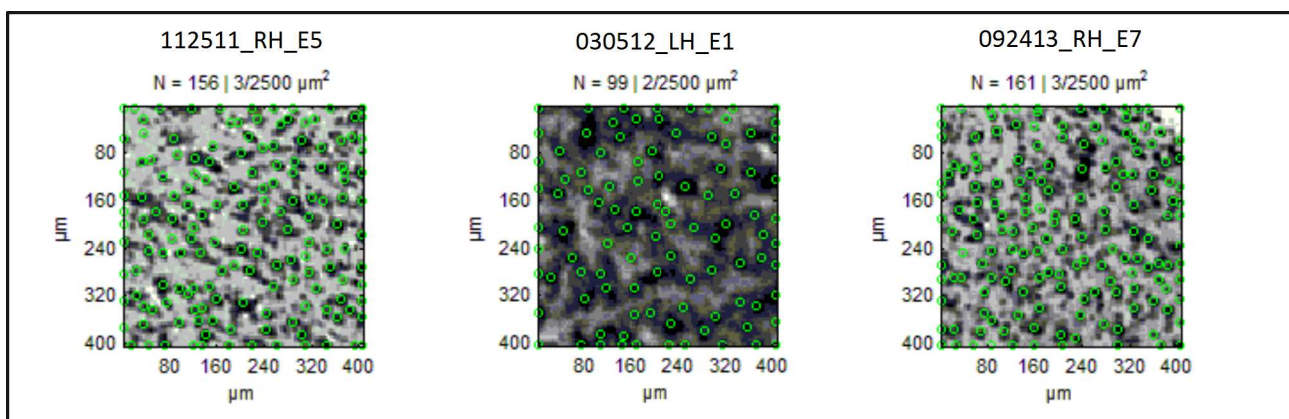
In allen Versuchsreihen wurde ausschließlich die Ableitelektrode mit dem beste Signal-Rausch-Verhältnis der Spikeantworten ausgewertet, deren Position in PMLS-Sulkus histologisch eindeutig bestimmt werden konnte (Abbildung 34). Eine Ausnahme bildet Experiment 090214, bei dem eine histologische Auswertung nicht möglich war. Durch Anlegen eines schwachen Stroms an die Elektroden wurden nach Beendigung der Ableitungen Läsionen im Gewebe erzeugt, um später die Ableitpositionen histologisch analysieren zu können. Die Elektroden der Experimente 112511 und 092413 befinden sich im medialen Bereich von PMLS von anterior nach posterior (E5,E7), dessen kortikale Schichten bis zur weißen Substanz an dieser Stelle eine Breite von etwa 2 mm einnehmen. Die Elektrodenspitze von 112511 befindet sich im tiefer liegenden Abschnitt von Schicht III. Die voluminöse Läsion von 092413 umfasst dagegen den tieferen Abschnitt von Schicht V. Die Elektrode von 030512 liegt anterior, woraus sich die geringere Schichtdicke von 1,3 mm ergibt. Der Gewebeschaden der voluminöse Läsion befindet sich im Zentrum der Markierung in einem granulären, dichten Teil der unteren Schicht IV. Die Einstichtiefen von ca. 3,2 mm entsprechen einer Position von 25°-40° von der vertikalen Mittellinie des radialen Polarkoordinatensystem des gesamten Gesichtsfeldes und somit dem Bereich des zentralen monokularen Gesichtsfeldes (Hubel & Wiesel, 1969; Palmer et al., 1978).



**Abbildung 34:** Lichtmikroskopische, histologische Aufnahmen kresylviolett gefärbter (Nissl-Färbung), koronarer Gewebeschnitte des PMLS der linken (LH) oder rechten (RH) Hemisphäre pro Experiment. Gezeigt sind die tangentialen Läsionen (Durchmesser ca. 200 µm) der implantierten PMLS-Elektroden (E), sowie deren Tiefe bis zur Endposition der Elektrodenspitzen (o) in den anhand der zytoarchitektonischen Unterschiede identifizierten PMLS-Schichten I bis VI mit angegebener Breite bis zur weißen Substanz (WM). M = medial, D = dorsal, L = lateral, V = ventral. Die ansteigende Nummerierung der Elektroden (E) verläuft von posterior nach anterior. Die quadratisch markierten Bereiche dient der Bestimmung der Zelldichte in der jeweils abgeleiteten Kortexschicht (siehe Abbildung 35).



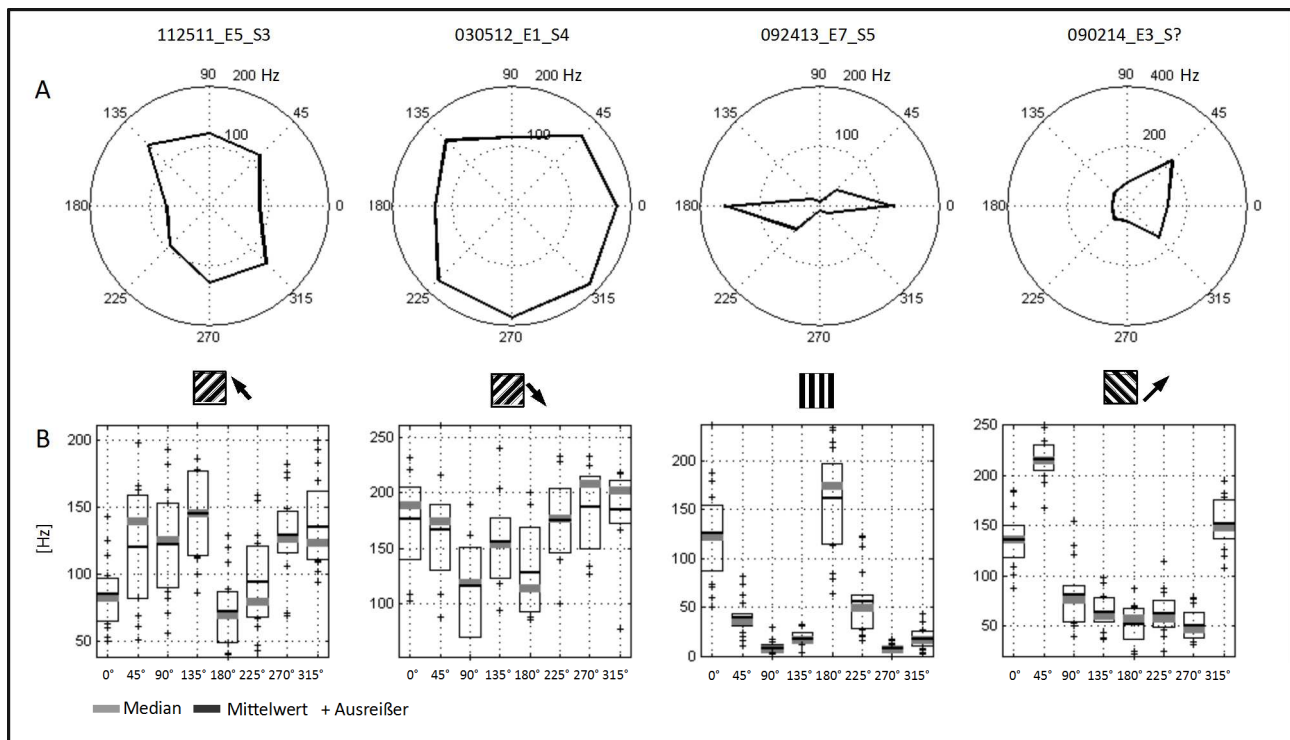
Die Zelldichte der jeweils penetrierten PMLS-Schicht wurde für jedes Experiment zunächst auf Basis der kresylviolett gefärbten Koronarschnitte (Abbildung 34) histologisch innerhalb eines Bereichs von  $400 \times 400 \mu\text{m}$  (Abbildung 34, Rechteck) bestimmt. Die Positionen der gefärbten Zellkörper heben sich als dunkle Flächen deutlich vom Hintergrund ab und wurden mit einem Gaussfilter automatisch detektiert (Abbildung 35). Als Radius für das Filterobjekt wurde eine durchschnittliche Zellkörpergröße zwischen  $10 \mu\text{m}$  (z.B. granuläre Zellen) und  $40 \mu\text{m}$  (z.B. große Pyramidenzellen) (Fiala & Harris, 1999) angenommen. Die neuronale Zelldichte im unmittelbaren, planaren Bereich um die exponierte Elektrodenspitze ( $\leq 10 \mu\text{m}$ , siehe Kapitel 6.4) beträgt etwa 2 – 3 neuronale Zellkörper pro  $50 \times 50 \mu\text{m}$ .



**Abbildung 35:** Lichtmikroskopische Aufnahmen kresylviolett gefärbter (Nissl-Färbung), koronarer Gewebeschnitte des PMLS der linken (LH) oder rechten (RH) Hemisphäre. Gezeigt sind Ausschnitte der durch die PMLS-Elektroden (E) penetrierten Schichten (S) mit der ermittelten Zellzahl (N) in einem Fenster von  $400 \times 400 \mu\text{m}$ , sowie die theoretische Zelldichte im Bereich einer exponierten Elektrodenspitze von  $< 50 \mu\text{m}$  für einen Bereich von  $50 \times 50 \mu\text{m}$  ( $x / 2500 \mu\text{m}^2$ ). Detektierte Zellkörper sind markiert (o, grün).

Nervenzellen der jeweiligen PMLS-Schichten werden zunächst über die Feuerrate ihrer Aktionspotentiale charakterisiert. Die Feuerraten einzelner Neuronen („Single Unit Activity“ - SUA) oder Gruppen von Neuronen („Multi Unit Activity“ - MUA) werden als Funktion des Reizparameters aufgetragen, was im Folgenden als „Tuning“ (Dayan & Abbott, 2001) bezeichnet wird. Die mittlere Feuerrate eines MUA/SUA-Signals kann spezifisch zur Stärke eines applizierten Stimulus korrelieren und wird als Kodierungsmechanismus betrachtet (Adrian & Zottermann, 1899; Gold, Girardin, Martin, & Koch, 2009). Die mittleren Feuerraten werden im Folgenden als Polarkoordinaten dargestellt (Abbildung 36). Die Gradeinteilung entspricht der Bewegungsrichtung des präsentierten Balkenmusters, wobei die Orientierung der Balken orthogonal zur Bewegungsrichtung steht. Ausgewertete Elektroden (E) und histologisch bestimmte Schichten (S) sind zur Referenz entsprechend angegeben. Die bidirektionalen Tunings von Experiment 112511 und 092413 stellen Orientierungspräferenzen dar, während 030512 ein unspezifisches

Feuerverhalten und 090214 eine eindeutige Richtungsselektivität zeigt. Die Experimente 112511 und 030512 zeigen zudem eine starken Streuung der Feuerraten.



**Abbildung 36:** Mittlere Feuerraten (Hz) ermittelt aus den Spike-Antworten der über die PMLS-Elektroden abgeleiteten Neurone als Funktion der Stimulationsbedingung. Die Gradangaben beziehen sich auf die Bewegungsrichtung des präsentierten Balkenmusters, wobei die Orientierung der Balken orthogonal zur Bewegungsrichtung steht. Elektrode (E) und Schicht (S) sind entsprechend nummeriert. Die untere Grafik zeigt das Bewegungsmuster für die höchste Feuerrate.

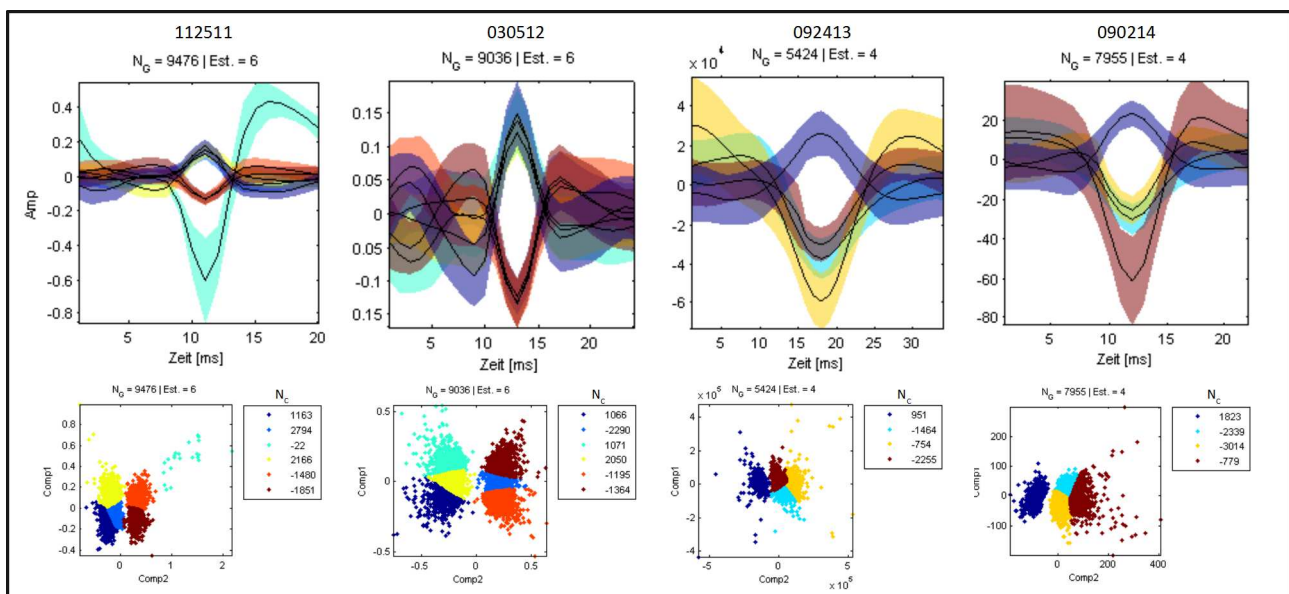
Trotz unterschiedlicher Aufnahmesysteme und damit verbundenem unterschiedlichem Signal-Rausch-Verhältnis konnten für alle Experimente im Mittel ähnliche Feuerraten im Signalverlauf der getunten Elektroden festgestellt werden (Tabelle 9).

	112511_E5_S3	030512_E1_S4	092413_E7_S5	090214_E5_S?
FR (Grundakt.) [Hz]	$18 \pm 4$	$38 \pm 12$	$15 \pm 2$	$17 \pm 2$
FR (Stim, tuned) [Hz]	$145 \pm 10$	$187 \pm 13$	$160 \pm 12$	$216 \pm 6$

**Tabelle 9 :** Mittlere PMLS-Feuerraten unter Stimulation mit höchstem Antwortverhalten. Die Fehler werden als Standardabweichung angegeben.

Eine einzelne Elektrode kann entweder das Signal eines einzelnen Neurons (SUA - „Single-Unit-Activity“) oder ein inferierendes Signal mehrerer Neuronen (MUA - „Multi-Unit-Activity“) erfassen. Außerdem weisen

nicht alle Neuronen eine konstante, evozierte Feuerraten auf. Einige Pyramidal- und insbesondere die Sternzellen in Schicht IV des Neokortex passen ihre Feuerraten oft adaptiv an anhaltende Stimulationsbedingungen an oder generieren stimulusunspezifische und hochfrequente Spike-„Bursts“ als Teil inhibitorisch wirkender Netzwerke (Connors & Gutnick, 1990). Insbesondere die Streuung der Feuerraten von 112511 und 030512 deuten auf ein MUA-Signal hin. Neben morphologischen Eigenschaften lassen sich Zelltypen auch über zeitlich variierende Mustern und strukturelle Unterschiede bezüglich der Wellenform und Amplitude ihrer Aktionspotentiale unterscheiden (Hubel, 1959; Gold et al., 2009). Die Unterscheidung einzelner Aktionspotentiale anhand ihrer Wellenform oder Polarität, insbesondere für MUA-Aufnahmen, ermöglicht Rückschlüsse auf Aktivierungssequenzen, Reichweiten und weitere Mechanismen, da verschiedene Antwortigenschaften einen signifikanten Einfluss auf das Verhalten des gesamten neuronalen Netzwerks ausüben können (Buzsáki et al., 2012). Da im weiteren Verlauf auch auf interareale Aspekte der spontanen Aktivität eingegangen wird, soll an dieser Stelle die Variation der Feuerraten jeder Elektrode mit untersucht werden. Wie in Kapitel 6.7 beschrieben, wurden die Aktionspotentiale anhand ihrer Wellenform, Polarität und Amplitude in Cluster unterteilt, im Folgenden „Spike-Sorting“ genannt. Es ist zu beachten, dass die Anzahl der Cluster (Abbildung 37, A) immer etwas höher liegen kann, als die tatsächliche Anzahl möglicher Neurone („Units“).



**Abbildung 37:** A) Verlauf der Wellenformen des mittleren Cluster-Templates aus den in B) zugeordneten Clustergruppen aus dem Zuordnungsergebnis einer k-means-Routine. B) Aufgetragen ist die erste und zweite Komponente einer PCA-Analyse der Wellenformen, die als Basis für die Clusterroutine verwendet wurden. Die Farbkodierung gibt die Clusterzugehörigkeit an. Die Clustergröße ( $N_c$ ) beschreibt die Verteilung der Gesamtposten ( $N_G$ ) aller Spikes aus allen verfügbaren Stimulationsphasen auf die einzelnen Cluster. Das Vorzeichen der Clustergröße gibt die Polarität des Wellenverlaufs an.

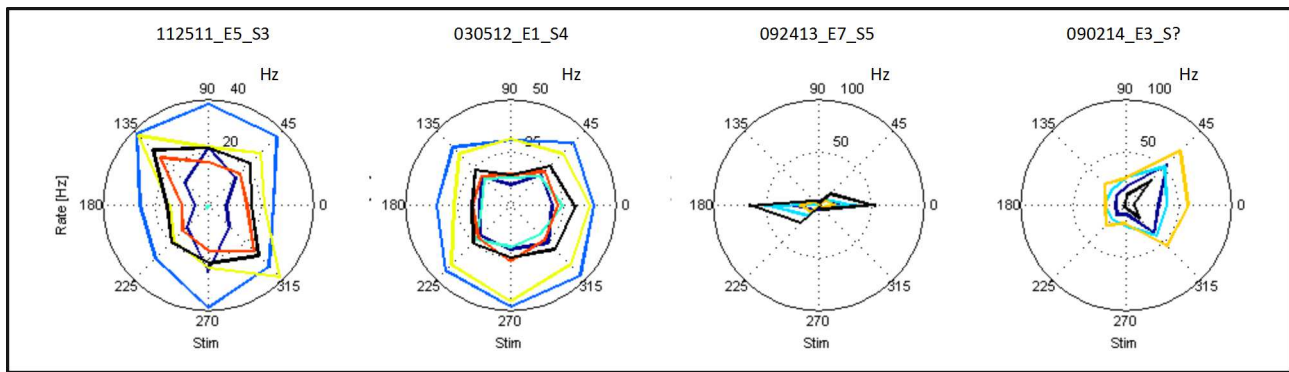
Das Spike-Sorting liefert lediglich eine Übersicht, die anhand der mittleren Wellenstruktur jedes Clusters, sowie der Verteilung der dem Clustern zu Grunde liegenden Komponenten (Abbildung 37, B) überprüft werden sollte. Im Mittel sind zunächst etwa 2-4 verschiedene Cluster zu erkennen. Alle Experimente zeigen biphasische Aktionspotentiale. 112511 weist eine Spikeform mit erhöhter negativer Amplitude, deren Anteil 0.2 % der Gesamtzahl aller Spikes beträgt und daher als Ausreißer betrachtet wird. Der Verlauf der mittleren Wellenformen sowie die Verteilung der Clusterkomponenten, Polaritäten und Amplituden deuten ein MUA-Signal an, das aus mindestens 2-3 Units für die Experimente 112511 und 030512 besteht. In beiden Fällen ist die Anzahl der Spikes pro Cluster gleichmäßig verteilt. Experiment 092413 und 090214 zeigen dagegen präferierte Verteilungen bezüglich eines Clusters mit negativer Polarität jedoch unterschiedlicher Amplitude, was auf ebenfalls auf 2-3 Units hindeutet. 112511 weist einen erhöhten Anteil von Aktionspotentialen mit positiver Polarität auf, wohingegen die Experimente 092413 und 090214 einen erhöhten Anteil von Aktionspotentialen mit negativer Polarität zeigen. Während die mittlere Verteilung der Polaritäten in der Grundaktivität und evozierten Phase gleich bleibt, nimmt deren Standardabweichung in Phasen der Grundaktivität zu.

	112511_E5_S3/4	030512_E1_S4	092413_E7_S5	090214_E5_S?
neg. Amp (Spon.) [%]	28 ± 24	66 ± 28	56 ± 35	77 ± 24
neg. Amp (Stim.) [%]	35 ± 7	54 ± 4	72 ± 23	78 ± 7

**Tabelle 10** : Verhältnis der Polarität der in PMLS auftretenden Spikes. Die Fehler werden als Standardabweichung angegeben.

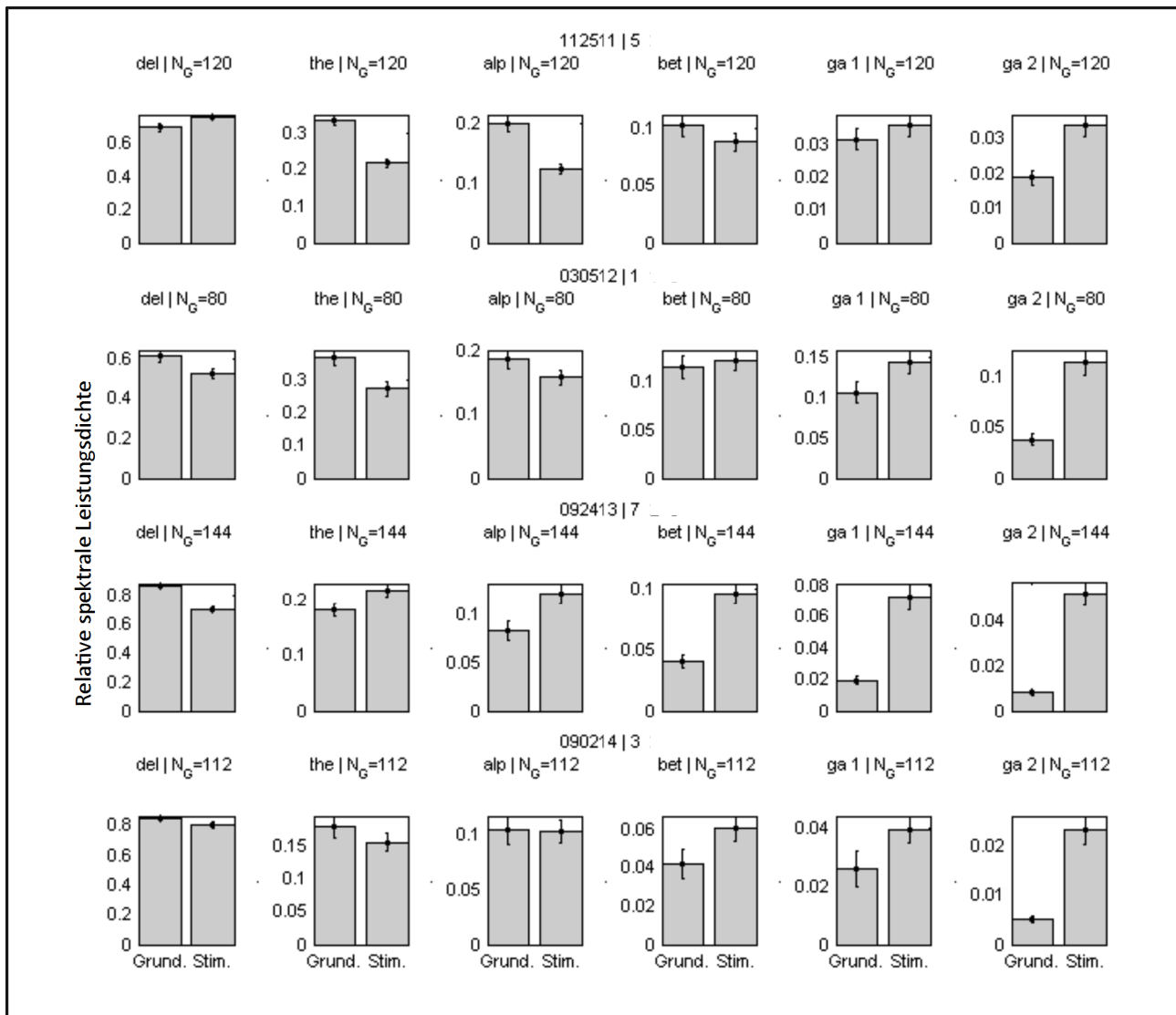
Die den Clustern zugeordneten Spikes wurden wiederum bezüglich ihrer Feuerraten betrachtet (Abbildung 38). Das MUA-Signal von Experiment 112511 setzt sich demnach aus mindestens zwei Neuronen mit bidirektionaler 90°/270° -, sowie 135°/315° - Präferenz zusammen. Experiment 030512 zeigt dagegen für alle Cluster ein ähnliches Tuning. Auf Grund der Lage der Elektrode in der granulären Schicht IV und der unterschiedlichen Wellenformen der einzelnen Cluster wird hier von einem unspezifisch auf die Stimulation reagierenden MUA-Signal ausgegangen. Ob es sich in diesem Fall um ein SUA-Signal handelt, lässt sich nicht eindeutig bestimmen. 092413 zeigt trotz biphasischer Wellenform für alle Clustern das gleiche bidirektionale Antwortverhalten. Auf Grund der Verteilung der präferierten Polarität wird von einem SUA-Signal ausgegangen. 090214 zeigt trotz biphasischer Wellenform für alle Cluster das gleiche richtungsselektive Antwortverhalten. Auf Grund der Verteilung der präferierten Polarität wird auch hier von einem SUA-Signal ausgegangen.





**Abbildung 38:** Mittlere Feuerraten (Hz) ermittelt aus den Spike-Antworten der über die PMLS-Elektroden abgeleiteten Neurone als Funktion der Stimulationsbedingung. Die Gradangaben beziehen sich auf die Bewegungsrichtung des präsentierten Balkenmusters, wobei die Orientierung der Balken orthogonal zur Bewegungsrichtung steht. Elektrode (E) und Schicht (S) sind entsprechend nummeriert. Die Farbkodierung folgt der Clusterindexierung aus Abbildung 37.

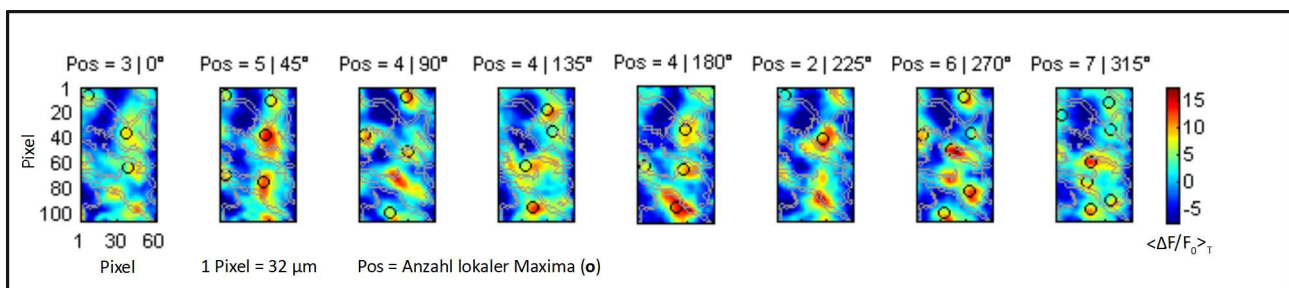
Um die mittlere, oszillative Funktionalität in Phasen der Grundaktivität (0 – 0,3 s) und der stationären, evozierten Aktivitätsphase (0,7 – 1 s, ohne VEP) nachzuweisen, wurde die mittlere Leistungsdichte des Signals der PMLS-Elektroden bestimmt (Abbildung 39). Die Fehlerbalken sind als mittlere quadratische Abweichung (SEM - „square error of mean“) definiert und beschreiben die Präzision des geschätzten Mittelwertes, nicht die Abweichung der Daten. Auch in PMLS dominieren Oszillationen im Bereich der Delta-, Theta-, Alphafrequenzen in den meisten Fällen die Grundaktivität. Während der Stimulation steigt die Leistungsdichte in den schnelleren Beta- und Gammafrequenzen. Das Leistungsspektrum der PMLS-Elektroden von Experiment 090214 weicht in diesem Fall nicht vom grundsätzlichen Ergebnis im Vergleich zu den anderen Experimenten ab.



**Abbildung 39:** PMLS-Elektroden (Versuch\_Elektrodennummer). Über alle Trials ( $N_G$ ) gemittelte relative Leistungsdichte (PSD - „power spectral density“) für physiologisch relevante Frequenzintervalle in Phasen der Grundaktivität (Grund.) und der Stimulation (Stim.). Fehlerbalken beschreiben die mittlere quadratische Abweichung der Präzision des Mittelwerts (Frequenzbänder : del = Delta, the = Theta, alp = Alpha, ga1/ga2 = Gamma).

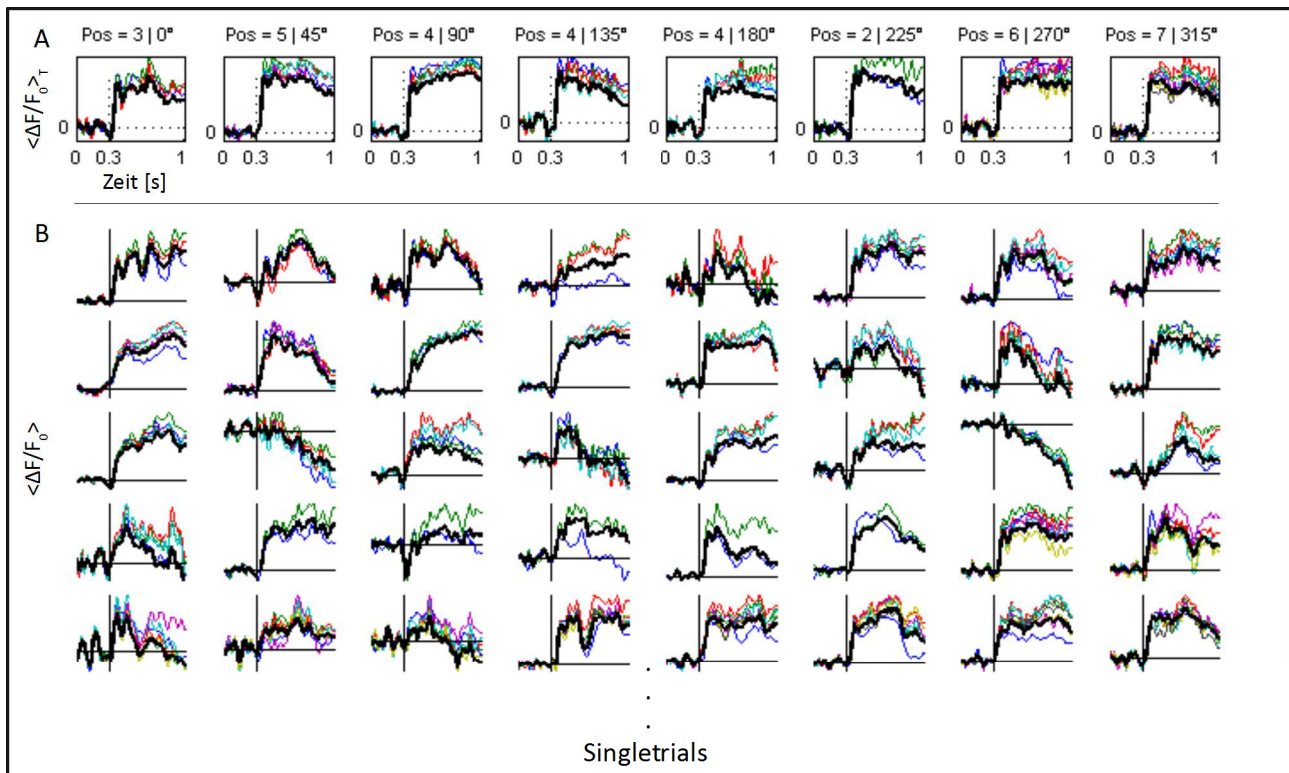
## 7.4 Raum-zeitliche Signalverläufe optischer Aufnahmen

Die VSDI-Karten wurden für jede Stimulationsbedingung über deren Singletrials gemittelt und das globale Hintergrundsignal mit dem in Kapitel 6.6 beschriebenen Filterkriterium zunächst entfernt, um die Detektion lokaler Signalanstiege zu ermöglichen (Abbildung 40). Deren zentrale Position wurde über ihr regionales Maximum bestimmt und ein Bereich mit einem Radius von 4 Pixeln ( $128\ \mu\text{m}$ ) als reizspezifisch antwortende kolumnäre Population definiert. Durch Gefäßstrukturen überlagerte Positionen, bzw. Pixelgruppen innerhalb der Bereiche wurden aus dem lokal gebildeten Mittelwert der ungefilterten VSDI-Karten ausgeschlossen.



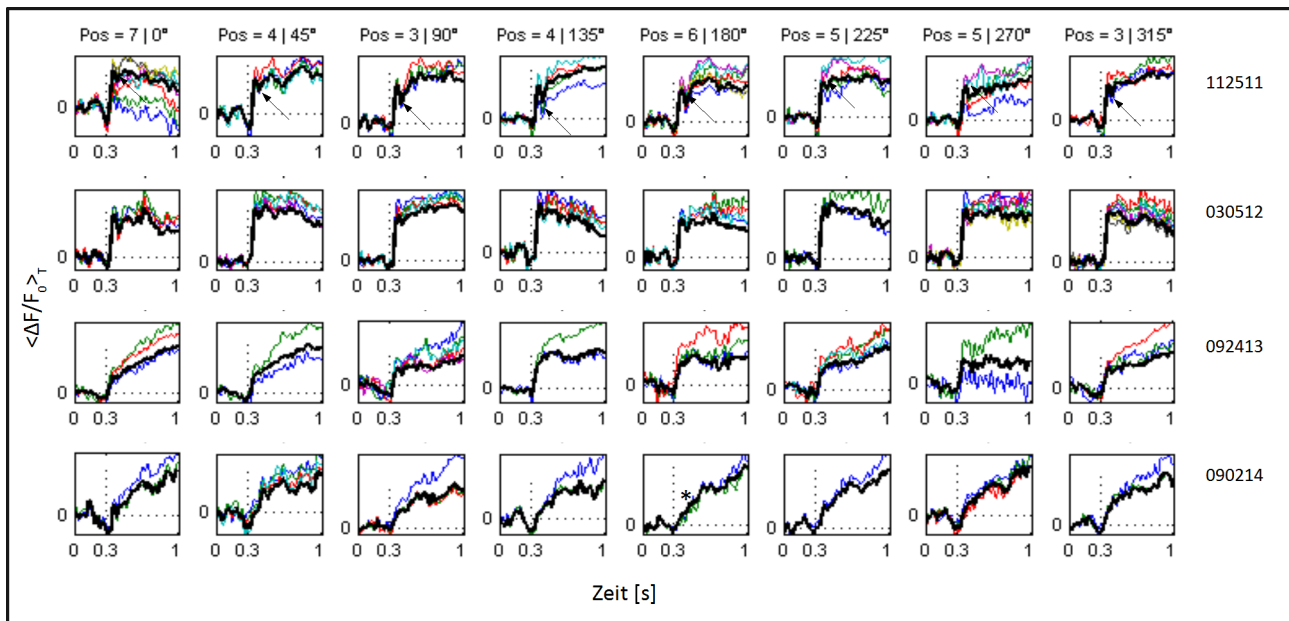
**Abbildung 40:** Bestimmung der Position (Pos = Anzahl der markierten Positione) lokaler Maxima (o) auf  $0^\circ$  -  $315^\circ$  bewegte Balkenstimuli reizspezifische antwortender neuronaler Populationen. Als Basis dienen gefilterte und gemittelte VSDI-Karten (Experiment 030512). Mit Gefäßstrukturen (grau) überlagerte Flächen wurden ausgeschlossen.

Das Antwortverhalten neuronaler Zellpopulationen in Area 18 (Abbildung 41) wird zunächst als räumlich gemittelte Zeitreihe der ungefilterten VSDI-Karten (Abbildung 41, schwarz) im Vergleich zu den in Abbildung 40 vereinzelt, lokalen Signalamplituden (Abbildung 41, farblich) für unterschiedliche Stimulationsbedingungen betrachtet. Dabei ist in Abbildung 41, A die über alle Singletrials gemittelte und in Abbildung 41, B die zeitlich abhängige Signalamplitude der Singletrials dargestellt. Die Stimulation beginnt nach einer 300 ms andauernden Aufnahmephase der Grundaktivität und führt zu einem transienten Signalanstieg der Signalamplitude, die im Mittel und über alle Singletrials zunächst eine Latenzphase aufweist. Der weitere zeitliche Verlauf zeigt trotz identischer, sich wiederholender Stimulationsbedingungen eine große Variabilität der Amplituden des evozierten, kolumnären Antwortsignals, sowohl zwischen den Singletrials, als auch während der laufenden Stimulation selbst. Im Gegensatz dazu weisen die vereinzelt Populationen untereinander ein hoch synchronisiertes, räumliche Antwortverhalten innerhalb der einzelnen Aufnahmeserie auf. Insbesondere transiente Signalwechsel treten deutlich als globales Phänomen auf. Außerdem ist in einzelnen Fällen ein globaler Abfall der Signalamplituden auf Niveau der Grundaktivität während der Stimulationsphase zu erkennen.



**Abbildung 41:** Zeitlicher Verlauf der räumlich gemittelten Populationsaktivität (schwarz) und der Aktivität einzelner Populationen (Pos = farblich) bei unterschiedlichen visuellen Stimulationsbedingungen (0° - 315° bewegte Balkenstimuli) am Beispiel von Experiment 030512. A) Über alle Trials und räumlich gemittelte Darstellung. B) Beispiele von Singletrials für jede Stimulationsbedingung. Vertikallinie = Onset, Horizontallinie = gemeinsames Grundaktivitätslevel, Zeilen = Trial, Spalten = Stimulationsmuster.

Abbildung 42 zeigt die räumlich und über alle Trials gemittelten Populationantworten der ungefilterten VSDI-Karten jeder Stimulationsbedingung pro Experiment. Kurz nach dem Start der Stimulation und dem initialer Anstieg, ist eine kurzzeitigen Suppression der Signalamplitude (Abbildung 42) sowohl im räumliche Mittel, als auch in den einzelnen kolumnären Populationen zu erkennen. Dieser Effekt tritt für jedes Experiment in unterschiedlicher Stärke, jedoch über alle Stimulationsphasen auf. Der Effekt wird im Zusammenhang mit der Desynchronisation inhibitorischer und exzitatorischer neuronalen Prozesse interpretiert und als „deceleration-acceleration-notch“ (DA-Notch) bezeichnet (Davis et al., 2002; Chemla & Chavane, 2010), wobei die physiologische Ursache noch weitestgehend ungeklärt ist. Das Experiment 112511 weist die größte Konsistenz bezüglich Stärke und Auftreten des DA-Notch, sowie die höchste, verbleibende Trial-Trial-Variabilität auf (siehe Tabelle 8). Der Effekt auf die nachfolgenden Signalamplituden ist im Vergleich zu den restlichen Experimenten jedoch nicht signifikant erhöht und wird daher als Ursache für die Trial-Trial-Variabilität ausgeschlossen.



**Abbildung 42:** Zeitlicher Verlauf der räumlich gemittelten Populationsaktivität (schwarz) und für einzelne Populationen (farblich) anhand unterschiedlicher visueller Stimulationsbedingungen für alle Experimente. Kurz nach Stimulationsbeginn (0,3 s) ist eine Suppression (Pfeil) des evozierten Antwortsignals zu erkennen, die als DA-Notch („deceleration-acceleration-notch“) bezeichnet wird.

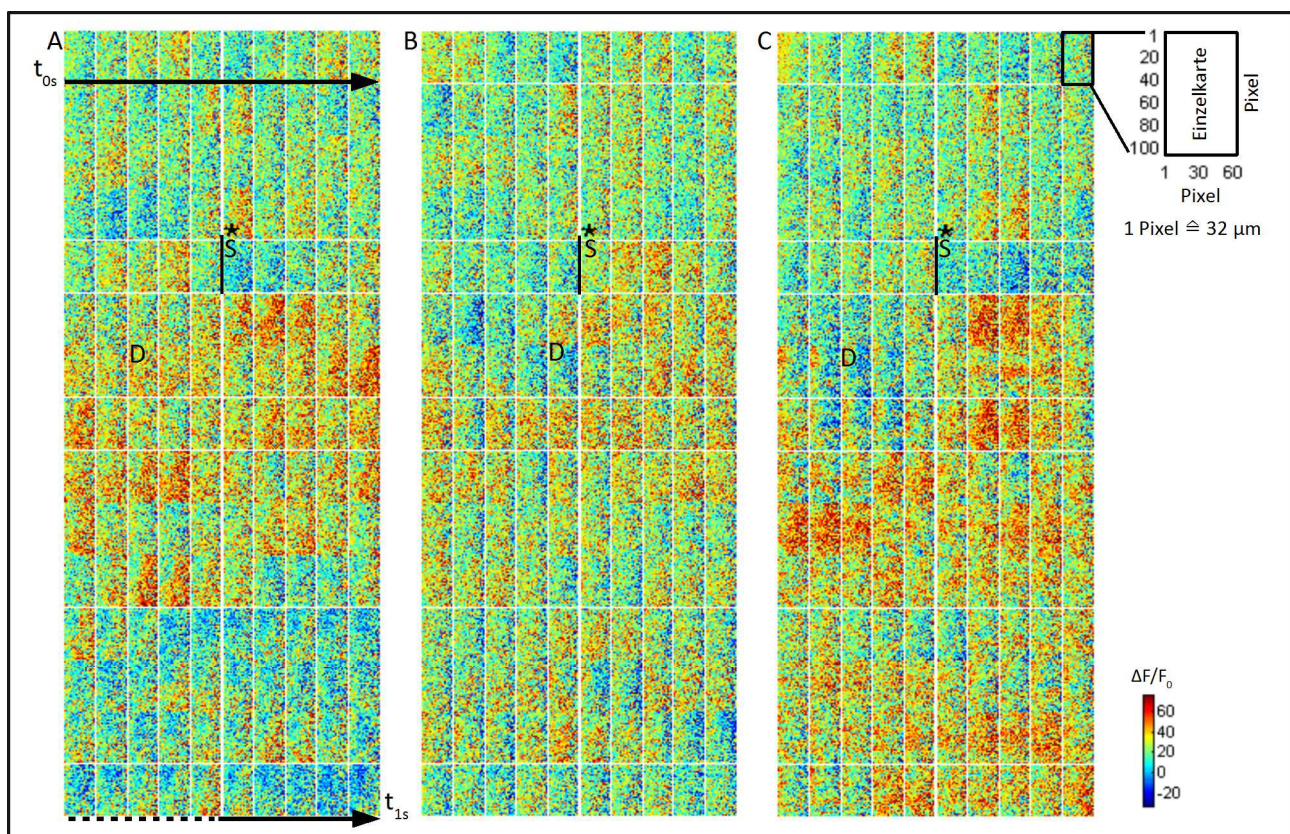
Die Latenz bis zum ersten signifikanten Signalanstieg nach Stimulationsbeginn sowie die zeitliche Position des DA-Notches wurde zunächst auf Basis der gemittelten Signalverläufe und für Singletrials über einen Mann-Whitney-Varianztest zur Detektion transienter Änderungen in Signalverläufen bestimmt (Trauth et al., 2007). Da das Ergebnis von der zeitlichen Größe einer Fensterfunktion und der Signalvariabilität abhängt, wurde erstere schrittweise zwischen 10 – 200 ms innerhalb eines Intervalls von 1 - 300 ms nach Stimulationsbeginn erhöht. Für das endgültige Ergebnis (Tabelle 11) wurde die Fenstergröße gewählt, welche die geringsten Abweichung zwischen den vier Experimenten ergab. Die evozierte Latenz des VSDI-Signals variiert zwischen 50 – 70 ms, was in Übereinstimmung zu elektrophysiologischen Veröffentlichungen mit Single- und Multielektrodenableitungen von Area 18 steht (Vogels & Orban, 1991; John H Maunsell & Gibson, 1992; Knierim & Van Essen, 1992; Celebrini et al, 1993). Der DA-Notch tritt in allen Experimenten etwa 120 ms nach Stimulationsbeginn auf. Auf eine Unterscheidung zwischen den einzelnen Stimulationsbedingungen wurde hier zugunsten eines stabileren Mittelwerts verzichtet.



	112511	030512	092413	090214
Latenz [ms]	$62 \pm 16$	$70 \pm 16$	$54 \pm 15$	$53 \pm 37$
DA-Notch [ms]	$126 \pm 30$	$129 \pm 23$	$113 \pm 32$	$114 \pm 37$

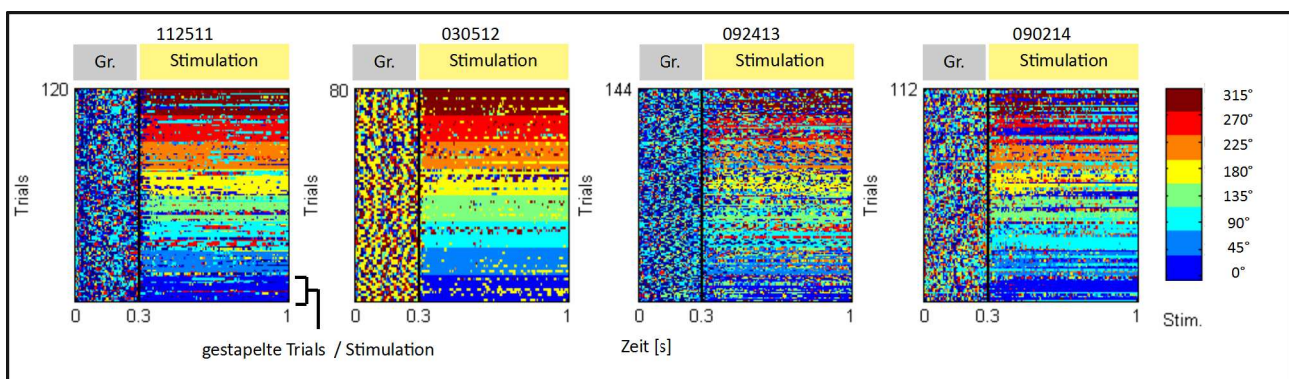
**Tabelle 11** : Area18 – Mittlere Latenzen des ersten signifikanten Signalanstiegs nach Stimulationsbeginn und mittlere zeitliche Position der kurzzeitigen Abnahme der globalen Signalstärke. Abweichung als Standardfehler.

Am Beispiel von drei ungefilterten Singletrials (Abbildung 43) des gleichen Stimulationsmusters ( $0^\circ$ ) in vollständiger, räumlich-zeitlicher Auflösung (150 Karten/s) ist eine Ausbreitung lokaler und globaler Depolarisation nicht nur während der evozierten Antwortphase (Abbildung 43,  $S - t_{1s}$ ), sondern auch über zeitlich aufeinander folgende Karten (Abbildung 43, A, Beispiel Umrandung) der Grundaktivität (Abbildung 43,  $t_0 - S$ ) zu beobachten. Der visuelle Kortex ist somit auch in Phasen ohne externe Stimulation aktiv. Trotz identischer Stimulationsbedingungen variiert die räumlich-zeitliche Antwortdynamik der zwischen den Singletrials und innerhalb der Stimulationsphasen. Der DA-Notch (D) tritt als globales Phänomen auf.



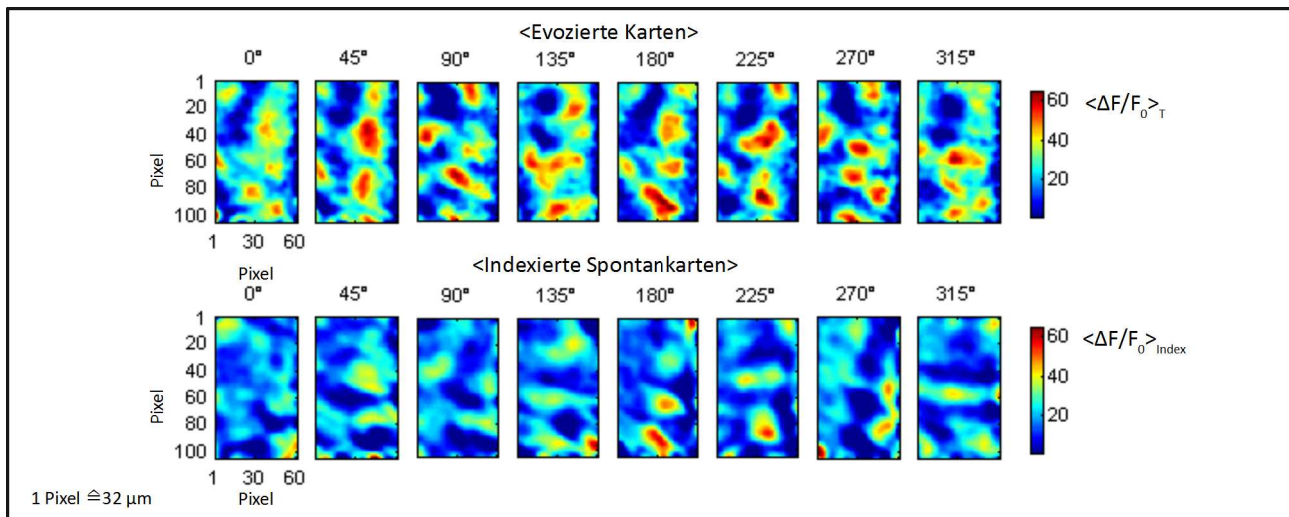
**Abbildung 43:** Zeitlich-räumlicher Verlauf der Aktivität für drei Singletrials unter gleicher Stimulation (A – C). Jede Zeile (Pfeil = 67 ms) zeigt 10 Einzelkarten (Rechteck). Während der Grundaktivität ( $t_{0s} - S$ ) und Stimulation ( $S - t_{1s}$ ) sind Zunahmen neuronaler Aktivität ( $\Delta F/F_0$ ) zu erkennen. Der DA-Notch („deceleration-acceleration-notch“) tritt in unterschiedlicher Stärke als globale Hemmung (D) des initialen Antwortsignals kurz nach Stimulationsbeginn (S) auf. Trotz gleicher Stimulationsbedingungen zeigt das raum-zeitliche Antwortverhalten von Area 18 deutliche Variationen.

Über alle Einzelaufnahmen gemittelten und ungefilterten VSDI-Karten für unterschiedliche Stimulationsmuster repräsentieren trotz der Trial-Trial-Variabilität durch das Superpositionsprinzip eine adäquate Darstellung des strukturellen Antwortverhaltens und wurden als Templates für eine Clusteranalyse der Singletrials verwendet. Die VSDI-Karten aller Singletrials wurde nach ihrer höchsten Korrelation (nach Pearson) einem der Templates zugeordnet und farbkodiert. Die Singletrials mit der Farbkodierung jeder Einzelkarte wurde in Abbildung 44 gegen die Zeit aufgetragen, wobei die Abfolge der Trials auf der y-Achse nach Stimulationsbedingungen gestapelt sind. Das grundsätzliche strukturelle Antwortverhalten bleibt trotz der Variabilität der Antwortstärke erhalten, was durch die farbcodierte Clusterung nach Stimulationsbeginn deutlich wird.



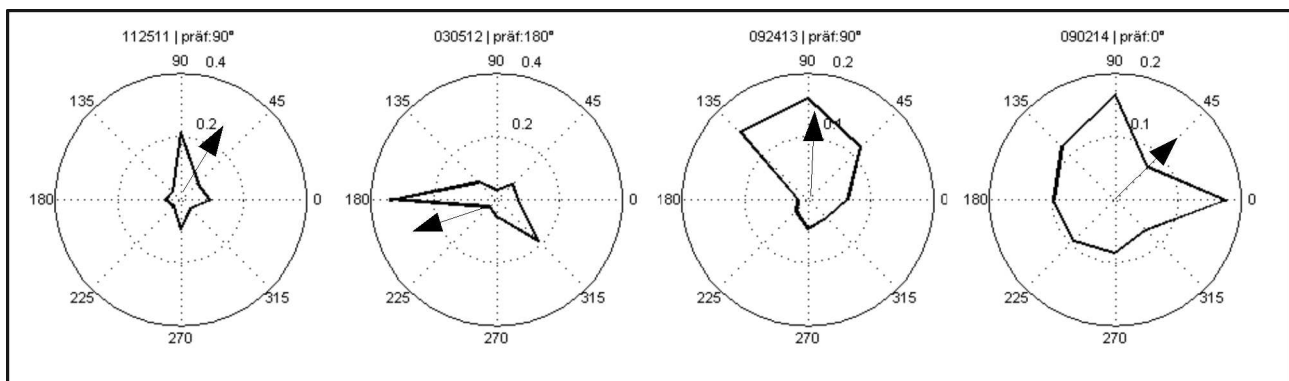
**Abbildung 44:** Indexierung von ungefilterten VSDI-Karten der Singletrials nach korrelativ bestimmter, struktureller Ähnlichkeit zu gemittelten, ungefilterten Karten der präsentierten Stimulationsbedingungen. Die y-Achse stellt die Trialanzahl dar, wobei die Trials jeder Stimulationsbedingung in Stapel zusammengefasst wurden. Die x-Achse zeigt den zeitlichen Verlauf der Grundaktivität (Gr.) und der stimulierten Phase. Die vertikale Linie markiert den Start der Stimulation.

Die Karten der Grundaktivität wurden nach ihrer Indexierung gemittelt und mit den evozierten, gemittelten Templates verglichen (Abbildung 45). Zum besseren Vergleich der strukturellen Eigenschaften wurden die Karten für die Darstellung räumlich gefiltert. Es zeigt sich, dass die Karten der Grundaktivität, neben den global depolarisierenden Traveling Waves, auch strukturelle Antwortdynamiken zeigen, die den evozierten Karten ähneln.



**Abbildung 45:** Über alle Singletrials gemittelte evozierte Aktivitätskarten für unterschiedliche Stimulationsbedingungen, sowie nach korrelativer Ähnlichkeit zugewiesene und nach Indexierung gemittelte Singletrialkarten der Grundaktivität am Beispiel von Experiment 030512. Zum besseren Vergleich der strukturellen Eigenschaften wurden die Karten für die Darstellung räumlich gefiltert.

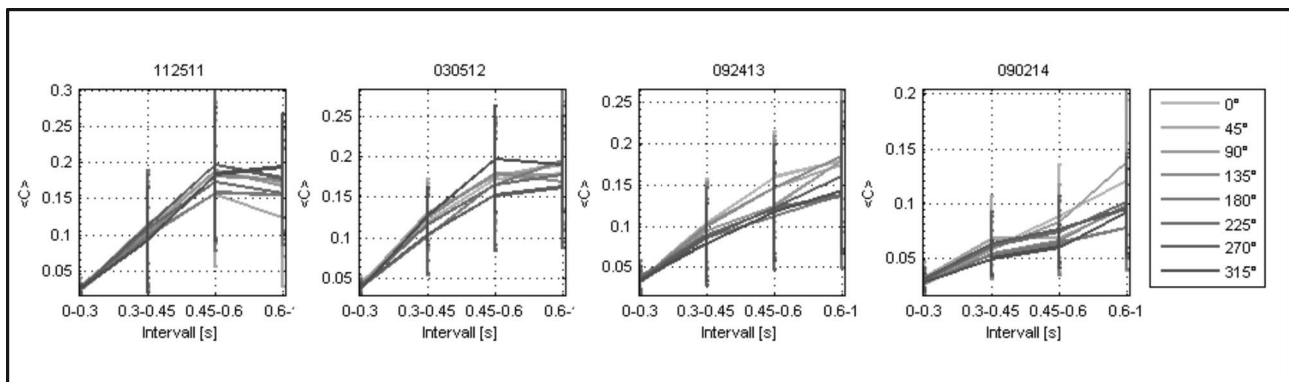
Außerdem ist eine Unterschied präferierter spontaner Muster zwischen linker (030512) und rechter (112511, 092413, 090214) zu erkennen. Die Grundaktivität der rechten Hemisphäre zeigt eine Verschiebung der Präferenz in nach rechts bewegte Stimulationsmuster, während Aufnahmen der linken Hemisphäre für das rechte Auge eine Präferenz für nach links bewegte Balkenmuster zeigt. Die Spontanaktivität zeigt hier eine zum zentralen Gesichtsfeld ausgerichtete Präferenz bezüglich der Bewegungsrichtung.



**Abbildung 46:** Tuning indexierter Spontankarten nach korrelativ bestimmter, struktureller Ähnlichkeit zu gemittelten, ungefilterten Karten der präsentierten Stimulationsbedingungen. Die radiale Nummerierung stellt die Orientierung des präsentierten Balkenmusters in Grad dar. Die Stärke des Tunings ist als Anteil über alle Trials angegeben.

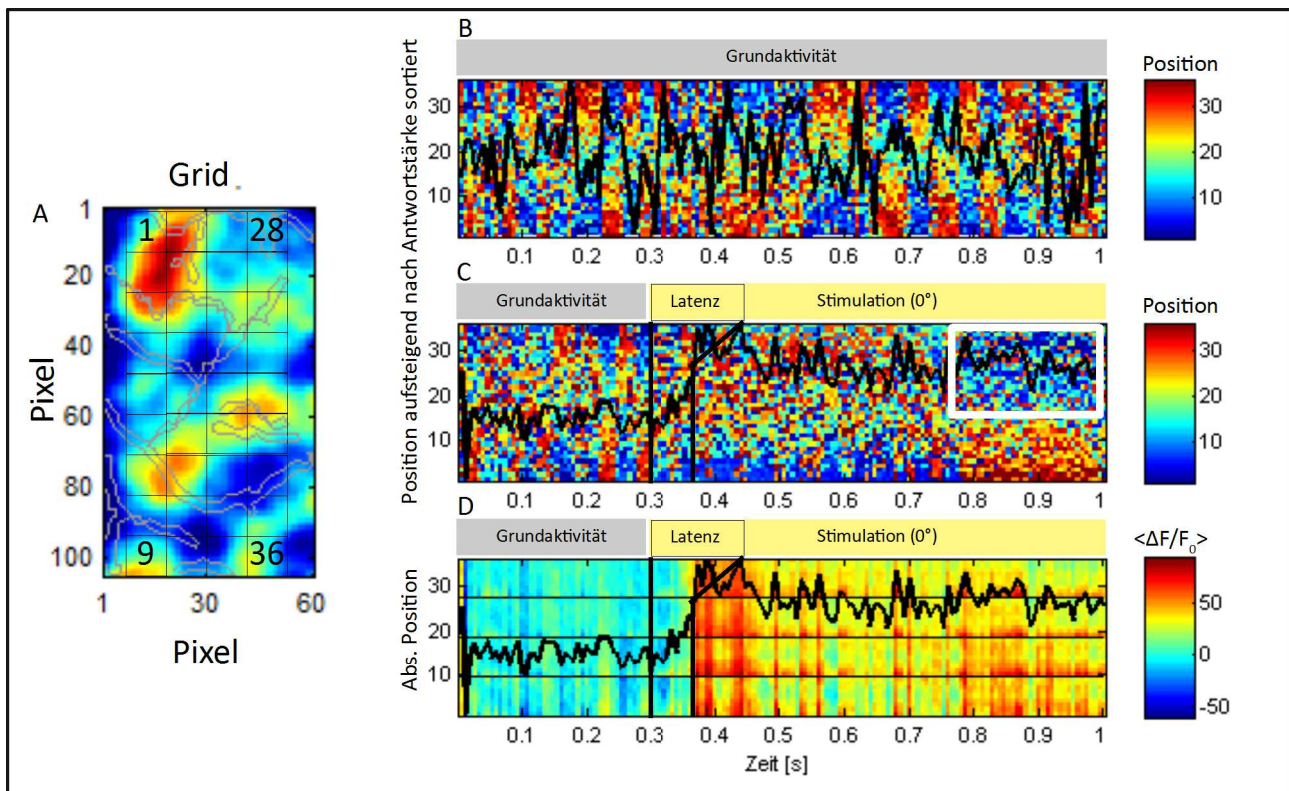


Die Korrelation der Einzelaufnahmen zu den jeweils gemittelten Karten jeder Stimulation nimmt innerhalb der in Abbildung 47 aufgeführten Zeitabschnitte unter allen Stimulationsbedingungen im Mittel zu. Etwa 500 ms nach Stimulationsbeginn zeigt sich eine Stabilisierung des strukturellen Antwortverhaltens.



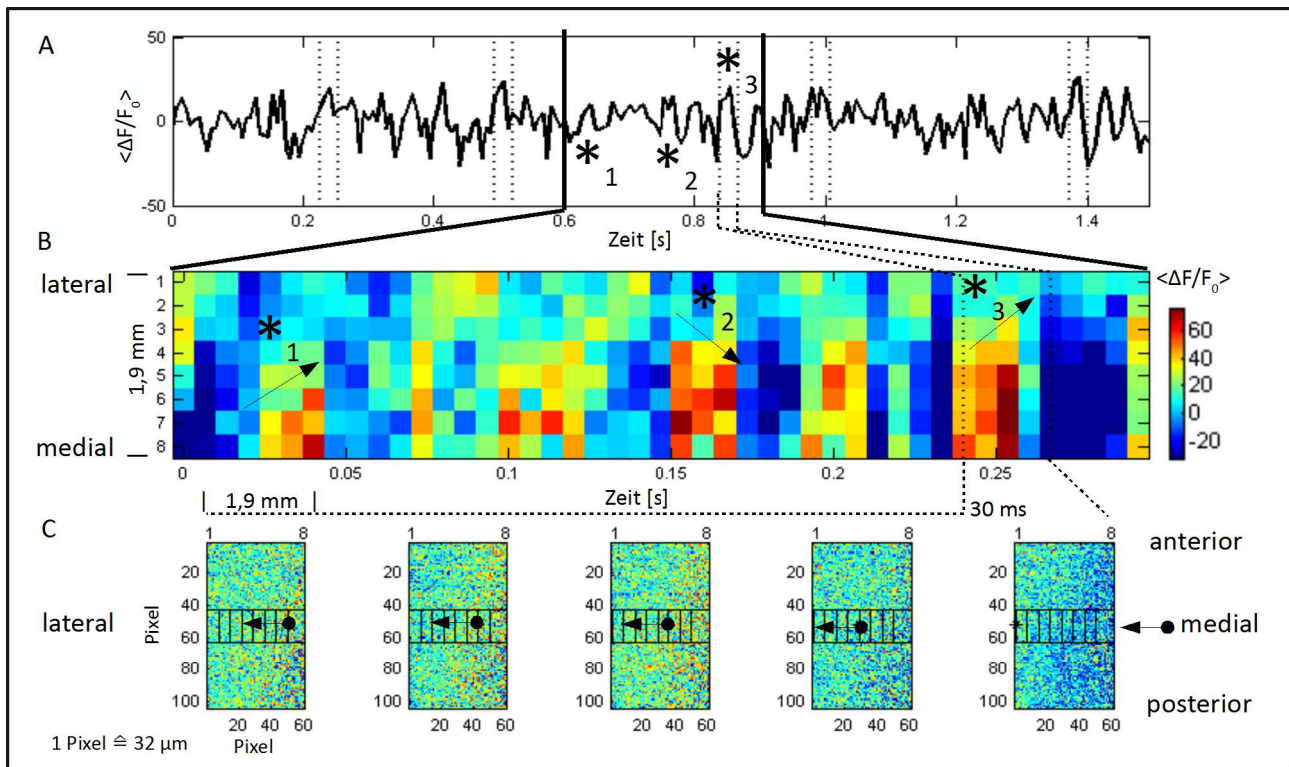
**Abbildung 47:** Anstieg der mittleren Korrelation zu den gemittelten Karte pro Stimulation während der Grundaktivität (0-0.3 s) und in in Zeitfenstern von 150 ms nach Stimulationsbeginn.

Um einen Eindruck der lokalen Aktivierungsreihenfolge zu erhalten, wurden die VSDI-Karten in ein gleichförmiges und rechteckiges Gitter aus 4 x 9 Einzelpositionen unterteilt (Abbildung 48, A). Für jede Position wurde die mittlere Amplitude innerhalb eines 4 Pixel (128  $\mu\text{m}$ ) Radius bestimmt, nicht gebinnt, um räumliche Unterschiede, wie durch Überlagerung mit der Orientierungskarte verdeutlicht, besser zu konservieren. Die Positionen wurden in aufsteigender Reihenfolge sortiert, um eine mögliche Gruppierung zeitlich zu verfolgen. Abbildung 48, B zeigt den Verlauf einer vollständigen Phasen der Grundaktivität. Positionen sind farblich indexiert, die y-Achse zeigt lediglich die Richtung der aufsteigenden Anzahl der Positionen. Steigt die global gemittelte Signalamplitude, so zeigt sich stets eine räumlich abhängige und wiederholende Aktivierungsreihenfolge lokaler Positionen, die sich überwiegend von medial nach lateral über die Kortexoberfläche bewegt. Um zu zeigen, dass es sich hierbei nicht um einen methodisch bedingten Beleuchtungsfehler handelt, sei beispielhaft das Singletrial einer 0°-Stimulation (Abbildung 48, C) gezeigt. Auch hier ist in der Grundaktivität das gleiche Muster zu erkennen (Abbildung 48, C), das sich mit dem Beginn der Stimulationsphase jedoch auflöst und in eine über mehrere Lokalitäten gestreute Aktivierungsreihenfolge übergeht. Etwa ab 0,8 Sekunden (Abbildung 48, C, D) kommt es zu einem abrupten Wechsel des aktiven Bereichs, jedoch ohne unmittelbar erkennbare Auswirkung auf die mittlere Amplitude. Man achte darauf, dass es sich in Abbildung 48, D um tatsächliche Positionen, nicht um die Sortierung handelt. Die Variationen der Stimulationsantworten betrifft also auch räumliche Aspekte der Karten selbst. Diese Verläufe konnte über alle Experimenten beobachtet werden.



**Abbildung 48:** A) Orientierungspräferenzkarte mit nummerierter Bereichsunterteilung (1 – 36 Positionen). B-C) Zeitlicher Verlauf der räumlich gemittelten Populationsaktivität (schwarz) und nach Signalamplitude aufsteigend gruppierte Positionsindizes (farblich) für 1 Sekunde Grundaktivität und Stimulation. Vertikallinie = Stimulationsbeginn. D) Veränderung lokale Signalamplituden (1 – 36, unsortierte tatsächliche Position in A) im Vergleich zum Verlauf der räumlich gemittelten Populationsaktivität (schwarz) für 1 Sekunde Grundaktivität und Stimulation. Das Zeitfenster (weißes Rechteck) mit den höchsten Korrelationswerten zu der zugehörigen gemittelten Karte zeigt die Stabilisierung auf lokale Antwortstrukturen. Vertikallinie = Stimulationsbeginn.

Bereits in frühen VSDI-Messungen im visuellen System von Affen konnte gezeigt werden, dass kortikale Aktivität nach dem Einsatz der Stimulation sich sowohl in lokalen, strukturellen Bereichen, als auch progressiv räumlich über mehrere Millimeter des gesamten betrachteten Areals ausbreiten kann (Lieke, Frostig, & Hildesheim, 1994; Sato et al., 2012). Die sich räumlich ausbreitende Depolarisation, die spezifisch auch als „Travelling Waves“ bezeichnet wird (Sato et al., 2012), stellt einen dominanten Signalanteil in der Grundaktivität dar und äußert sich im räumlich gemittelten VSDI-Signal in Form von bis zu 30-40 ms anhaltenden Signalanstiegen (Abbildung 49 ,A). Traveling Waves stellen einen Aktivitätszustand dar, der vor allem in Phasen niedriger oder fehlender visueller Stimulation auftritt (Sato et al., 2012).



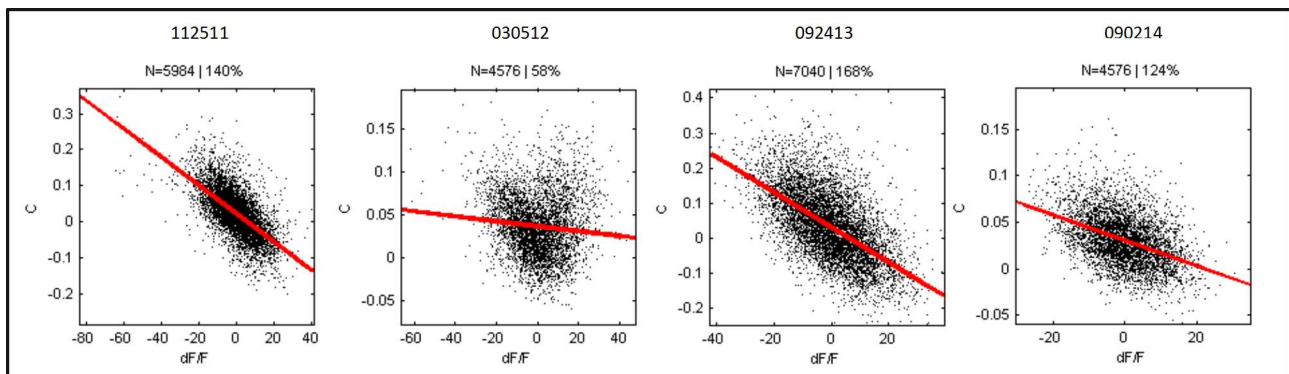
**Abbildung 49:** A) Räumlich gemittelte Populationsantwort in Phasen der Grundaktivität mit markierten Signalanstiegen, die länger als 30 ms dauern. B) Mittlere Aktivität von jeweils einer von acht Fensterpositionen eines lateral (1,9 mm) verlaufenden Scan-Plot der VSDI-Karten innerhalb eines Zeitfensters von 300 ms. Die Pfeile geben die Richtung der räumlichen Signalausbreitung des in A markierten Amplitudenverlaufs an. C) Temporaler Ausschnitt und korrespondierende VSDI-Karten des Scan-Plots eines Zeitfensters von 30 ms. Der Pfeil gibt die Richtung der über den Kortex propagierenden Wellenfront an.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Wellenfront beträgt über alle Experimente im Mittel 50  $\mu\text{m/ms}$  (Tabelle 12) und wurde anhand des Phasenunterschieds zwischen Position 1 und Position 8 eines in lateraler Richtung erstellten Scan-Plots berechnet, der aus den gemittelten Pixel innerhalb der Fensterfunktion (Abbildung 49, B) gebildet wurde. Die Bewegungsrichtung der propagierenden Wellenfront kann von einem spontanen Zustand zum nächsten unterschiedlich ausfallen (Abbildung 49, B, C, Pfeile).

Experiment	112511	030512	092413	090214
Geschwind. [ $\mu\text{m/ms}$ ]	$53,9 \pm 4$	$33,3 \pm 2,9$	$66,7 \pm 3,6$	$61,8 \pm 4,2$

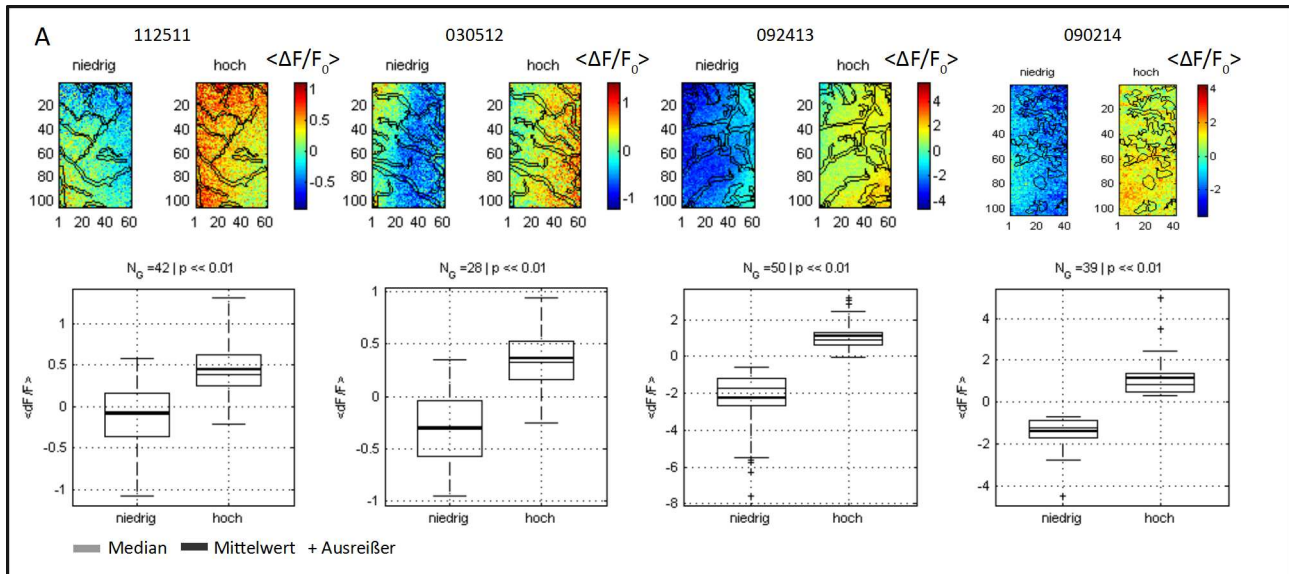
**Tabelle 12 :** Gemittelte Geschwindigkeit der räumlichen Wellenfront über einen Zeitraum von 30 ms. Fehler als mittlere quadratische Abweichung.

Die Korrelation der Einzelkarten der Grundaktivität zu den gemittelten, evozierten Karten wurde in Abhängigkeit zu raum-zeitlich gemittelten Signalamplitude der Einzelkarten gesetzt. Ein Anstieg der globalen Signalamplitude einer Einzelkarte hat offenbar eine Abnahme der strukturellen Organisation zur Folge.



**Abbildung 50:** Räumliche Korrelation zwischen gemittelten Karten zu den Einzelkarten der Grundaktivität in Abhängigkeit von der globalen Signalamplitude.

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Grundaktivität in Area 18 aus lokalen Aktivitätsmustern sowie globalen Depolarisationswellen zusammensetzt. Als spontaner Zustand wird in dieser Arbeit der Depolarisationsgrad des raum-zeitlichen Mittels der VSDI-Karten der Grundaktivität verstanden. Um Zusammenhänge auf Signifikanz testen zu können, wurde die aufsteigend sortierte Verteilung der raum-zeitliche gemittelten VSDI-Karten der Grundaktivität jedes Trials in Testgruppen aufgeteilt. Als Testgruppe mit Phasen niedriger spontaner Aktivität dienen Einzelaufnahmen des unteren 35 % Perzentils der Gesamtverteilung. Die Testgruppe der Einzelaufnahmen mit Phasen hoher spontaner Aktivität wurde aus dem oberen 35 % Perzentil gebildet. Es sollte jedoch bedacht werden, dass die tatsächliche Verteilung nicht innerhalb dieser Grenzen liegen muss. Abbildung 51 zeigt den Aktivierungszustand der zeitlich und über alle Trials gemittelte Grundaktivität jeder Testgruppe in räumlicher Auflösung, sowie als Boxplot der Streuung der raum-zeitlichen Mittelwerte jedes Singletrials. Mittels Mann-Whitney-U-Test wurde geprüft, ob sich beide Testgruppen innerhalb eines 95% Konfidenzintervalls in ihrem Mittel signifikant ( $p < 0.05$ ) voneinander unterscheiden. Deutlich ist die Zunahme des Aktivierungsgrades zwischen beiden Testgruppen in allen Pixel zu erkennen. Die geringste Überschneidung der Testgruppen bezüglich der Standardabweichung bilden Experiment 092413 und 090214.

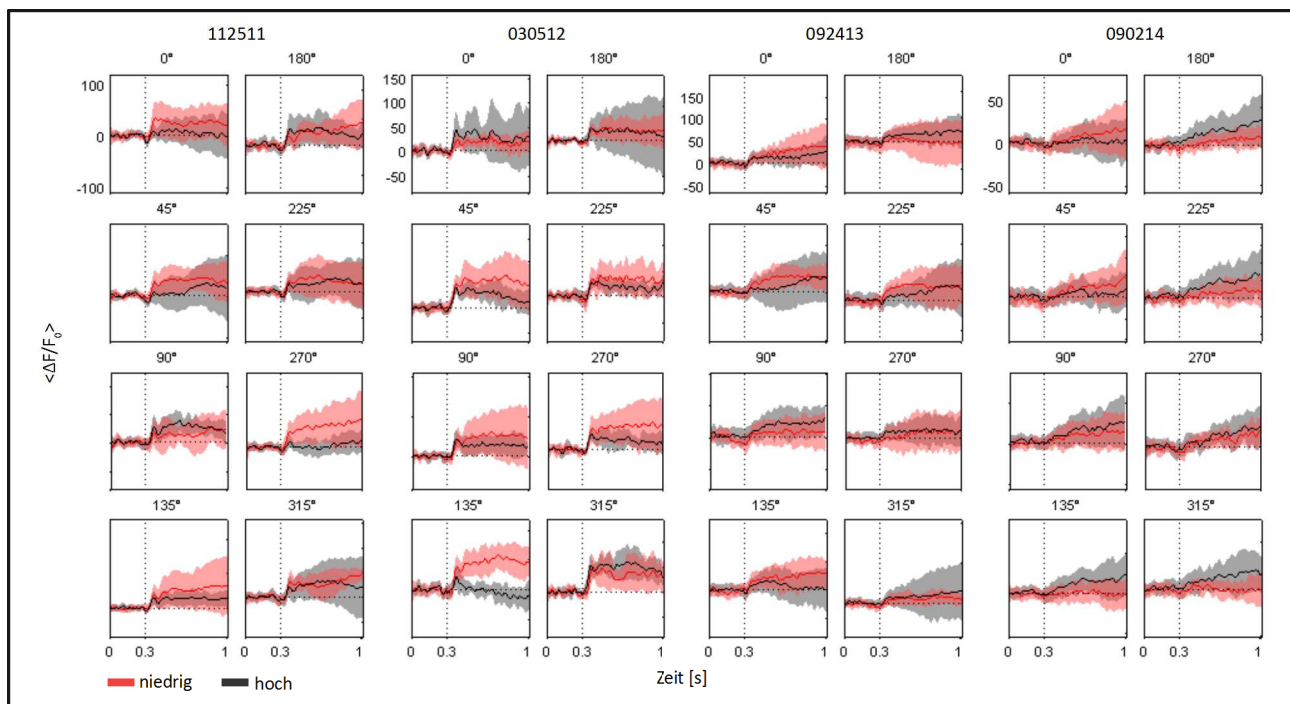


**Abbildung 51:** A) Gemittelte VSDI-Karten von Area 18 für Singletrials aus Testgruppen mit niedrigen und hohen Depolarisationsphasen. Jede Testgruppe wurde aus dem oberen und unteren 35 % Perzentil einer Gesamtverteilung aller Trials gebildet. Die Gesamtverteilung wurde aus der raum-zeitlich gemittelten Depolarisationsamplitude eines Zeitfensters von 300 ms Grundaktivität gebildet. B) Boxplots des Streuungsverhaltens jeder Testgruppe bestehend aus  $N_G$  Trials.



## 7.5 Einfluss spontaner Aktivität

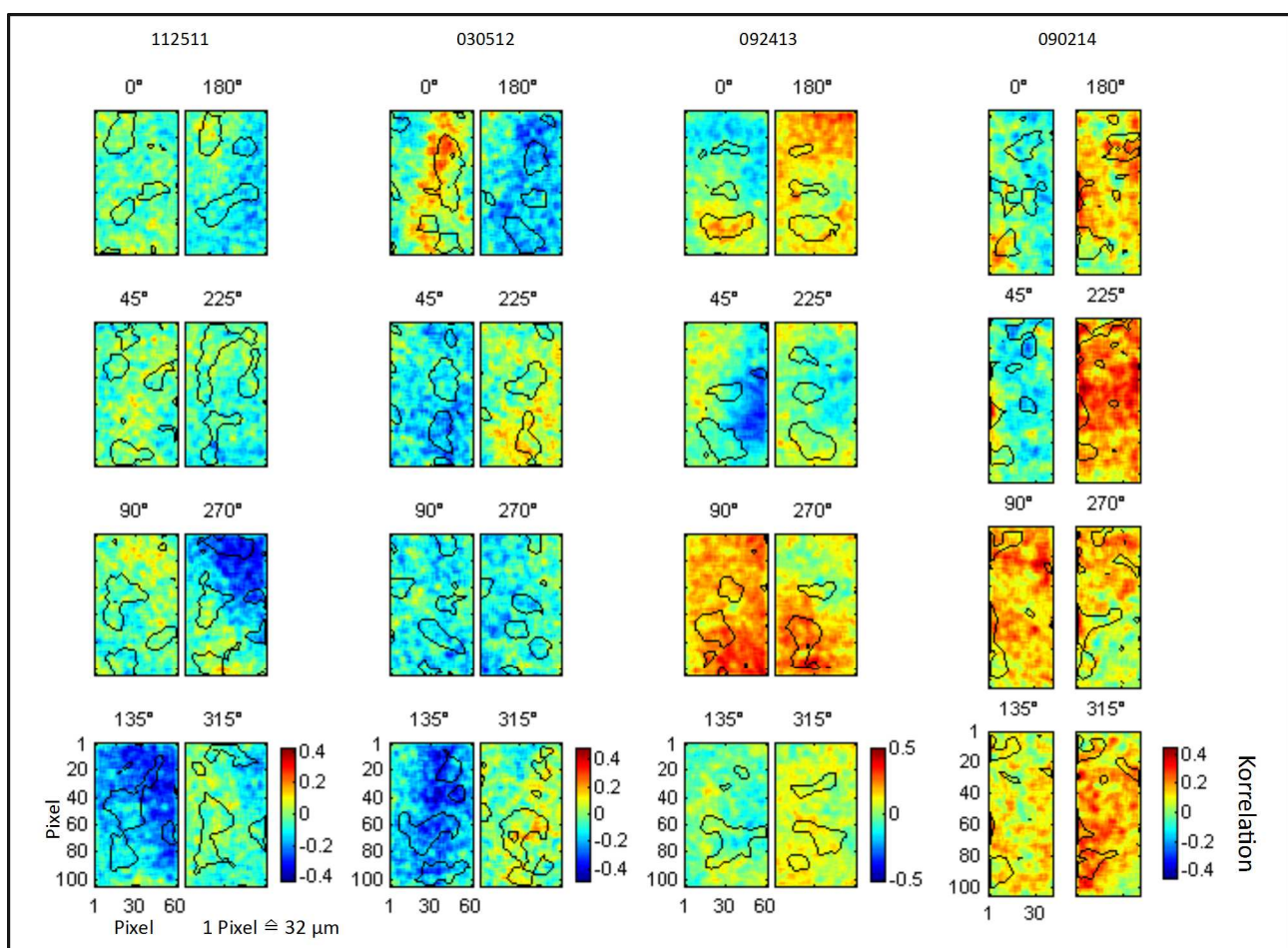
Es konnte gezeigt werden, dass die evozierte Populationsamplitude des VSDI-Signals zwischen Einzelaufnahmen variiert, jedoch das reizspezifische, strukturelle Antwortverhalten grundsätzlich erhalten bleibt. Außerdem konnte festgestellt werden, dass die Grundaktivität Phasen erhöhter Depolarisation aufweist, die sowohl die globale, als auch die lokale räumliche Ausbreitung der Aktivität betreffen. Damit eröffnen sich eine ganze Reihe neuer Fragen zu der bisherigen Auffassung bezüglich der Lokalität neuronaler Antwortdynamiken. Im Folgenden soll zunächst untersucht werden, ob spontane Zustände in der Grundaktivität unmittelbar (300 ms) vor Beginn einer 700 ms anhaltenden Stimulation Einfluss auf die evozierte Antwortstärke der Zellpopulationen nimmt. Die Populationsaktivität jeder VSDI-Karte wurde zunächst räumlich gemittelt. Die Grundaktivität jedes Trials wurde, wie beschrieben, in spontan hoch und niedrig aktive Testgruppen aufgeteilt und der zeitliche Verlauf der Populationsaktivität über die Trials jeder Testgruppe gemittelt und deren Standardabweichung pro Karte bestimmt (Abbildung 52).



**Abbildung 52:** Abhängigkeit der Stimulationsantwort von hoher und niedriger Spontanaktivität, definiert als globaler Polarisationszustand der vorangehenden Grundaktivität. Dargestellt ist das räumliche Mittel und die Standardabweichung in zeitlicher Auflösung für das Antwortverhalten kolumnärer Strukturen in Area 18 auf bewegte Balkenmuster unterschiedlicher Orientierung (0° - 315°).

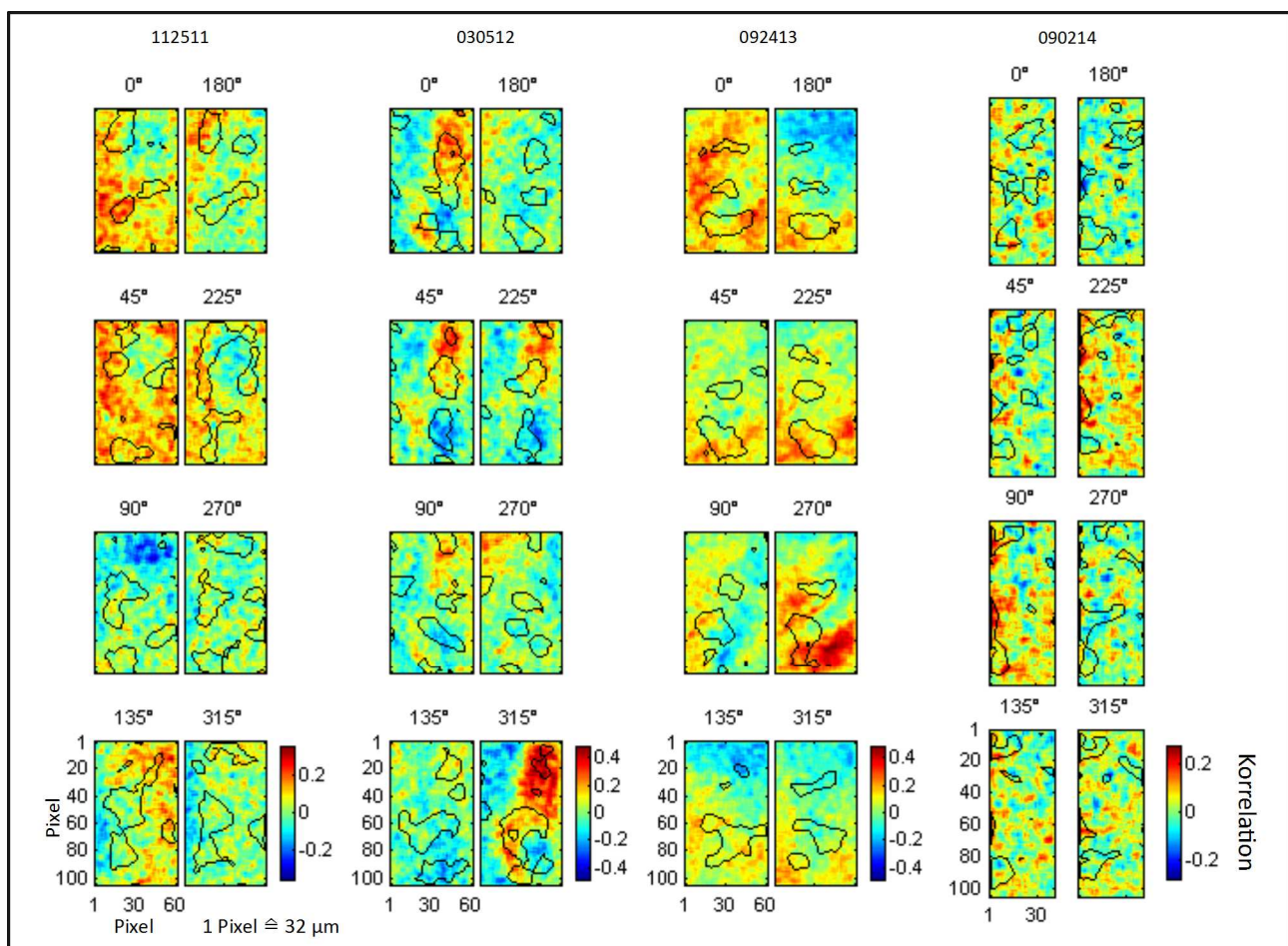
Der Einfluss spontaner Aktivität auf die evozierten Populationsamplituden weist eine mögliche Abhängigkeit von der Stimulationsbedingung auf. Außerdem kann ein wechselseitiger Zusammenhang zwischen gegensätzlichen Bewegungsrichtungen und ein unterschiedliches Streuungsverhalten beobachtet werden.

Eine oft getroffene Aussage, dass hohe vorangehende Spontanaktivität immer zu einer erhöhten Stimulationsantwort führt, kann dagegen nicht festgestellt werden. Tatsächlich gibt es diesbezüglich voneinander abweichende Darstellungen, die im Folgenden näher beleuchtet werden sollen. Oft werden VSDI-Daten räumlich oder zeitlich gefiltert, um globale Elemente aus den Signalverläufen zu entfernen. Globale Depolarisation von Kortexarealen wird jedoch zunehmend im Zusammenhang mit den Feuerraten von Aktionspotentialen des Areals sowie auf interarealer Ebene betrachtet. Oft werden auch einzelne Populationen unter Ausschluss des restlichen Kartenmaterials analysiert. Insbesondere letzteres kann das Ergebnis verfälschen, wie in Abbildung 53 aufgezeigt. Hierbei wurde die zeitlich gemittelte, evozierte Antwortstärke mit der vorangehenden zeitlich gemittelten Spontanamplitude über alle Trials und für jeden Pixel korreliert.



**Abbildung 53:** Korrelativer Zusammenhang zwischen Stimulationsantwort und hoher und niedriger Spontanaktivität der vorangehenden Grundaktivität in räumlicher Auflösung von Area 18. In schwarz die lokale Struktur stimulationsspezifischer Populationsantworten auf bewegte Balkenmuster unterschiedlicher Orientierung. Der Anstieg der Spontanaktivität zeigt eine räumliche Trennung des Einflusses auf die Amplituden der Populationsantwort.

Bereiche stimuluspezifischer Populationsantworten wurden schwarz umrandet. Nicht alle kolumnären Populationsantworten sind positiv mit dem Anstieg der Spontanaktivität korreliert. Auf räumlicher Ebene ist eine klare Delokalisation der Abhängigkeit der Antwortamplituden zur spontanen Aktivität zwischen entgegengesetzten Bewegungsrichtungen zu erkennen. Abbildung 54 zeigt, dass die zeitlich mittlere Variation des reizspezifischen, lokalen Antwortverhaltens mit der Zunahme der Spontanaktivität in den meisten Antwortstrukturen positiv korreliert. Während spontane Aktivität unmittelbar vor einer Stimulation also eine räumliche Auswirkung auf die Antwortstärken nehmen kann, induziert sie gleichzeitig eine erhöhte zeitliche Variation der Amplituden aller beteiligten Strukturen.

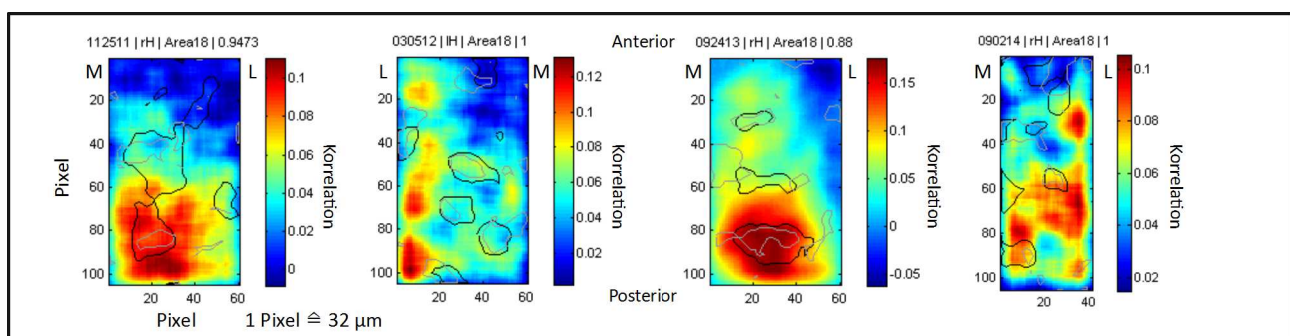


**Abbildung 54:** Korrelativer Zusammenhang zwischen der Varianz der Stimulationsantwort und hoher und niedriger Spontanaktivität der vorangehenden Grundaktivität in räumlicher Auflösung von Area 18. In schwarz die lokale Struktur stimuluspezifischer Populationsantworten auf bewegte Balkenmuster unterschiedlicher Orientierung. Mit Anstieg der Spontanaktivität nimmt die Varianz der Populationsantworten zu.



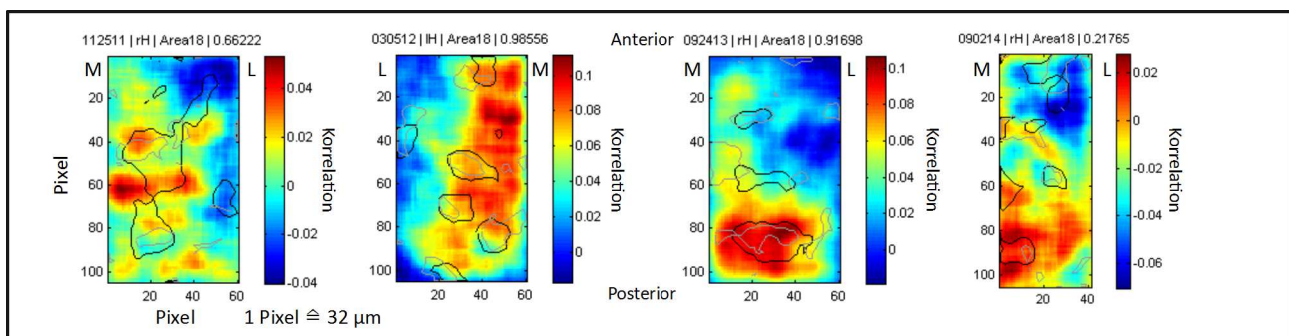
## 7.6 Interareale Kommunikation

Die Verarbeitung von visuellen Informationen wird zunehmend mit Zuständen in Verbindung gebracht, bei denen Areale des visuellen Systems nicht nur an der Verarbeitung eingehender Stimulationen beteiligt sind, sondern auch eine Erwartungshaltung bezüglich eines externen Inputs generieren oder sich in einem internen Verarbeitungsmodus befinden. Spontane Aktivität wurde seither mit Modulationsmechanismen in Zusammenhang gebracht, welche die aufgezeigte Variabilität der Stimulusantwort erklären könnten (Arieli et al., 1996; Kisley & Gerstein, 1999). Als mögliche Modulatoren werden interareale Mechanismen ausgehend vom visuellen Thalamus, höheren kortikalen Arealen wie dem PMLS oder lokale neuronale Spontanaktivität beschrieben. Der PMLS Kortex stellt eines der hierarchisch höheren Areale des dorsalen Pfads dar und kann über Feedbackverbindungen die Aktivität von Neuronen im primären visuellen Kortex modulieren (Arieli et al., 1996; C. Wang, 2000; Galuske et al., 2002; van Dijk et al., 2008; Vögler, 2014; Bastos et al., 2015). Studien zur Aufklärung interarealer Feedbackverbindungen konnten aufzeigen, dass viele der synaptische Eingänge in Area 18 ihren Ursprung im Areal des PMLS – Kortex haben und meist exzitatorisch wirken (Payne et al., 2002, Jähner, 2013). Im Folgenden wurden Veränderungen der Oszillationen neuronaler Aktivität der ECoG-, LFP-, und Spike-Signale zu Zeitpunkten hoher und niedriger spontaner Aktivität untersucht. Die Korrelation der spontanen Spike-Raten in PMLS mit der Spontanaktivität in Area 18 wurde über alle Singletrials und jeden Pixel der VSDI-Karten ermittelt (Abbildung 55). Die Darstellung wurde mit einem Medianfilter geglättet, um räumlich zusammenhängende Bereiche hervorzuheben. Außerdem wurden Bereiche der Populationsantworten auf jenes Stimulationsmuster eingezeichnet, das mit den getunten PMLS-Elektroden übereinstimmte.



**Abbildung 55:** Räumliche Korrelation zwischen den Feuerraten der Aktionspotential in PMLS und der zeitlich gemittelten Populationsaktivität in Area 18 während der Grundaktivität. Die Falschfarben zeigen hier den Grad der Korrelation zwischen jedem Pixel der VSDI-Karten mit den Feuerraten der PMLS-Elektroden über alle Trials. In schwarz sind die Populationsantworten auf Stimulationsmuster, welche mit den getunten PMLS-Elektroden übereinstimmen, eingezeichnet. In Prozent ist der Flächenanteil angegeben, der positive mit den Aktionspotentialen der PMLS-Elektroden korreliert (IH = linke Hemisphäre, rH = rechte Hemisphäre)

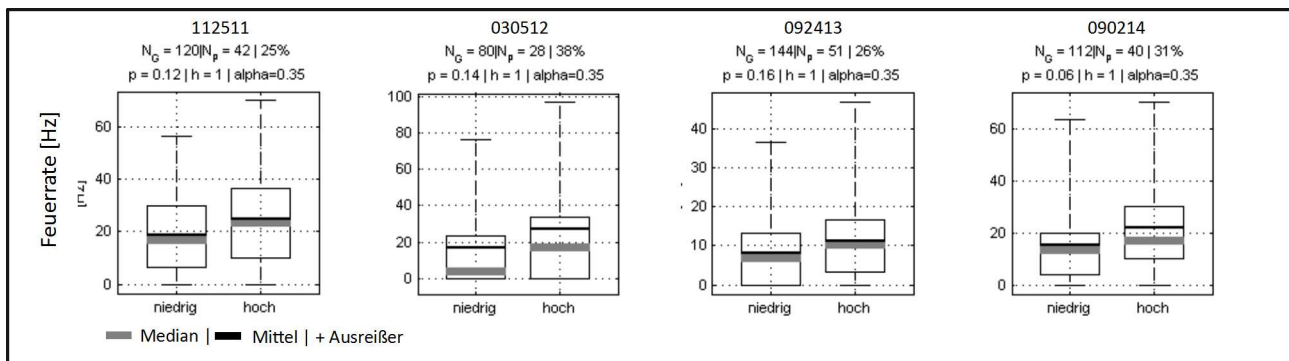
In allen Experimenten korreliert während der Grundaktivität mindestens 88% der Pixelfläche positiv mit dem Anstieg der Spike-Raten für die jeweils bestimmten Schichten in PMLS. Eine Abhängigkeit der Feuerraten des PMLS vom raum-zeitlich gemittelten, spontanen Depolarisationsgrad wird daher als ausreichende Annahme betrachtet. Die Korrelation der Spike-Raten des PMLS mit den räumlichen VSDI-Karten von Area 18 während der Stimulationsphasen zeigen, dass die Feuerraten für Experiment 112511 und 090214 mit einer deutlich geringere Fläche positiv korrelieren als in den Experimenten 030512 und 092413, die eine weiterhin hohe Korrelation aufweisen. An dieser Stelle muss die Kortexschicht bedacht werden, in der die Ableitung in den jeweiligen Experimenten stattfand. Es konnte nachgewiesen werden, dass axonale Verbindungen aus den supragranuläre Schichten II/III des PMLS (112511) eine geringe räumliche Divergenz und Verbindungen aus der infragranulären Schichten V (092413) eine höhere Divergenz in Area 18 aufweisen (Jähner, 2013). Aus Schicht IV gehen zum einen keine Verbindungen Richtung PMLS hervor, zum andere ist das Tuning der Feuerraten für 030512 und somit der korrelative Zusammenhang zur Fläche (> 98%) auch hier eher unspezifisch. Die Populationsantworten auf die in PMLS getunten Stimulationsmuster wurden auch hier iengezeichnet.



**Abbildung 56:** Räumliche Korrelation zwischen den Feuerraten der Aktionspotential in PMLS und der Populationsaktivität in Area 18 während der Stimulation. Die Falschfarben zeigen hier den Grad der Korrelation zwischen jedem Pixel der VSDI-Karten mit den Feuerraten der PMLS-Elektroden über alle Trials. In schwarz sind die Populationsantworten auf Stimulationsmuster, welche mit den getunten PMLS-Elektroden übereinstimmen, eingezeichnet. In Prozent ist der Flächenanteil angegeben, der positive mit den Aktionspotentialen der PMLS-Elektroden korreliert (lH = linke Hemisphäre, rH = rechte Hemisphäre).

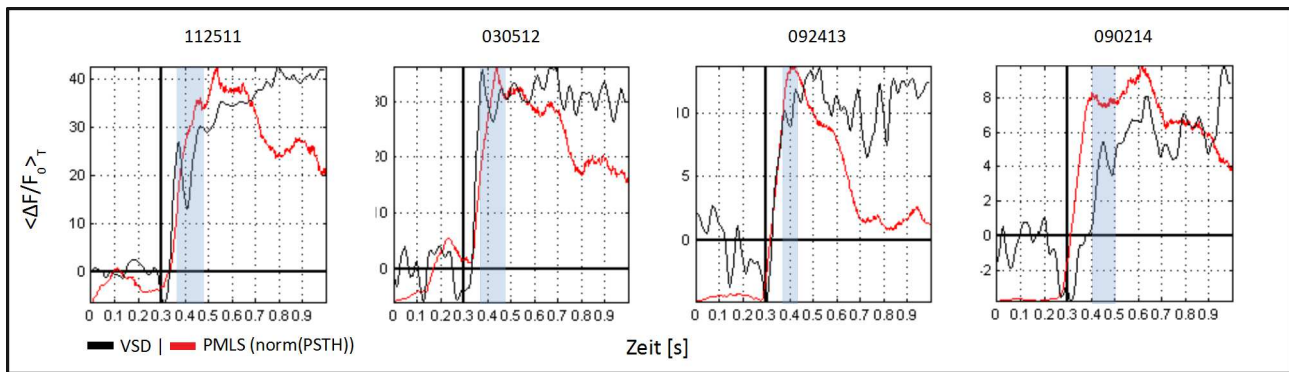
Die Singletrials der VSDI-Aufnahmen wurden, wie zuvor beschrieben, in Testgruppen niedriger und hoher Spontanaktivität in Area 18 unterteilt und die Feuerraten des PMLS jeder Testgruppe als Boxplot dargestellt (Abbildung 57). Der Unterschied zwischen den Medianen der Testgruppen wurde für alle Experimente für das 65 % Konfidenzintervalls getestet (Mann-Whitney-U-Test,  $\alpha = 0,35$ ). Mit Erhöhung der spontanen Aktivität in Area 18 steigen auch die spontanen Feuerraten des PMLS im Mittel um 30 %, was hier lediglich einen Trend andeutet. Das Konfidenzintervall und der p-Wert muss im Kontext der Beurteilung der Spontanaktivität anhand des raum-zeitlichen Mittels betrachtet werden. Die Signifikanz der Aussage ist

unter diesen Bedingungen von dem betrachteten Kortextbereichs von Areal 18 abhängig und in diesem Fall nicht besonders hoch. Trotz des hohen p-Wertes kann innerhalb des 65 % Konfidenzintervalls die Nullhypothese verworfen werden ( $h = 1$ ), dass die Testgruppen keinen Unterschied zeigen.



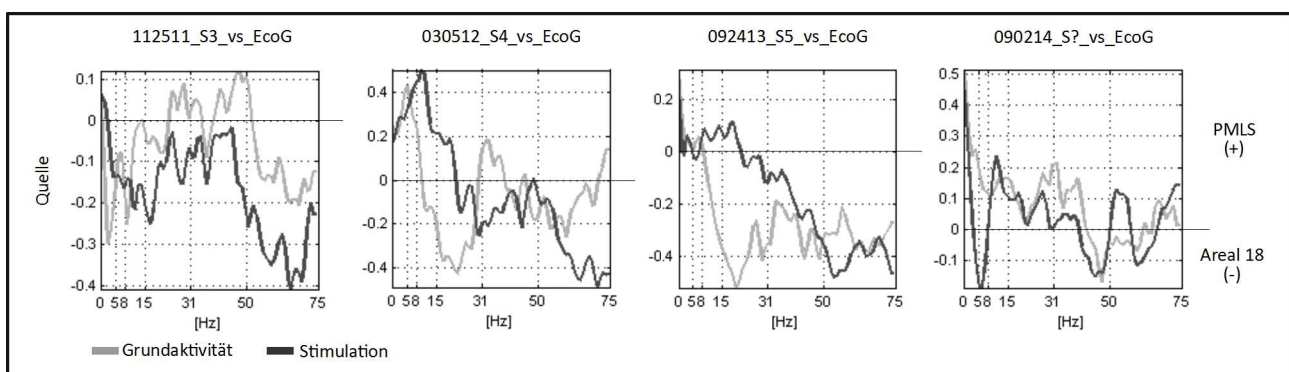
**Abbildung 57:** Abhängigkeit der Feuerraten der Aktionspotentiale in PMLS von niedriger und hoher spontaner Aktivität in Area 18. Aus allen Trials der Grundaktivität ( $N_G$ ) wurde eine Testgruppe ( $N_P$ ) des oberen und unteren 35 % Perzentils der global gemittelten Spontanaktivität gebildet. Im Mittel nehmen die Feuerraten in PMLS mit dem Anstieg der spontanen Aktivität in Area 18 innerhalb des 65 % Konfidenzintervalls ( $\alpha = 0.35$ ,  $p < 0.2$ ,  $h = 1$ ) um 30 % zu.

Für das bezüglich der Feuerraten in PMLS getunte Stimulationsmuster wurde ein über alle Singletrials gemittelt PSTH („spike time histogram“) erstellt (Abbildung 58, rot), mit einem Gausskernel von  $\sigma = 10\text{ms}$  geglättet und zur Amplitude des korrespondierenden VSDI-Signals (Abbildung 58, schwarz) normalisiert. Immer ca. 50-100 ms nach der Latenzzeit des VSDI-Signals ihr Maximum erreicht. Die Abnahme der mittleren Feuerraten in PMLS am Ende der Stimulation führt zur Zunahme der mittleren Amplitude des VSDI-Signals. Zeitverzögert. Auffällig ist auch, dass die Feuerraten in allen Fällen zunächst mit der Populationsaktivität in Area 18 ansteigen und nach etwa 300 ms nach Stimulationsbeginn absinken, während die Signalamplitude des VSDI-Signals erhöht bleibt. Wie die Korrelation zeigte, ist in dieser Phase die strukturelle Antwort am stabilsten (Abbildung 47). Die Frage ist, ob die nachlassenden Feuerraten in PMLS eine Abnahme der Modulation oder eine lokale Spezifizierung darstellt.



**Abbildung 58:** Abgebildet ist das zur Signalamplitude des räumlich und über alle Trials gemittelten VSDI-Signals (schwarz) normalisierte PSTH (rot) der getunten PMLS-Elektrode. Der rechteckig markierte Zeitabschnitt zeigt die zeitliche Verzögerung des Anstiegs der mittleren Feuerraten der Aktionspotentiale in PMLS im Vergleich zum Anstieg der mittleren VSDI-Amplitude. Etwa 300 ms nach Beginn der Stimulation nimmt die Feuerrate ab, während das VSDI-Signal eine Plateauphase zeigt.

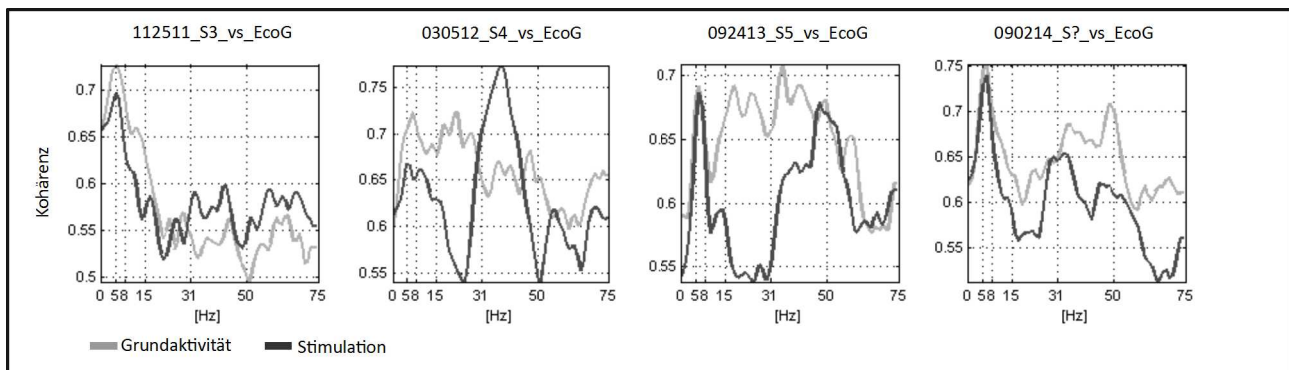
Die Bestimmung der Phasenverschiebung zwischen den EcoG-Elektroden in Area 18 und den PMLS Elektroden mit Hilfe der Kohärenzanalyse (Chronux-Toolbox-Matlab™, TW = 3, K = 5) hat ergeben, dass ein großer Anteil der betrachteten Frequenz bis zwischen 0,1 bis 75 Hz ihren Ursprung in PMLS haben. Dies gilt für die Grundaktivität, als auch die Stimulationsphase. Somit besteht die Möglichkeit, dass PMLS eine modulatorische Funktion auf die Aktivität in Area 18 ausübt. Eine Ausnahme bildet das Experiment 090214, dessen ECoG-Elektroden als defekt eingestuft wurden.



**Abbildung 59:** Phasenverschiebung zwischen Area 18 und PMLS und daraus ermittelter Ursprung des treibenden Oszillators.

Eine Kohärenz von 1 entspricht keiner Phasenverschiebung zwischen den Signalen zweier neuronaler Populationen. Sie sind somit identisch weisen eine ynchrone Oszillation auf. Durch die unterschiedliche Lage der Elektroden kann keine vergleichende Aussage zu spezifischen Frequenzbändern getroffen werden. Während der Grundaktivität besteht eine erhöhte Kohärenz in allen Frequenzen, insbesondere in

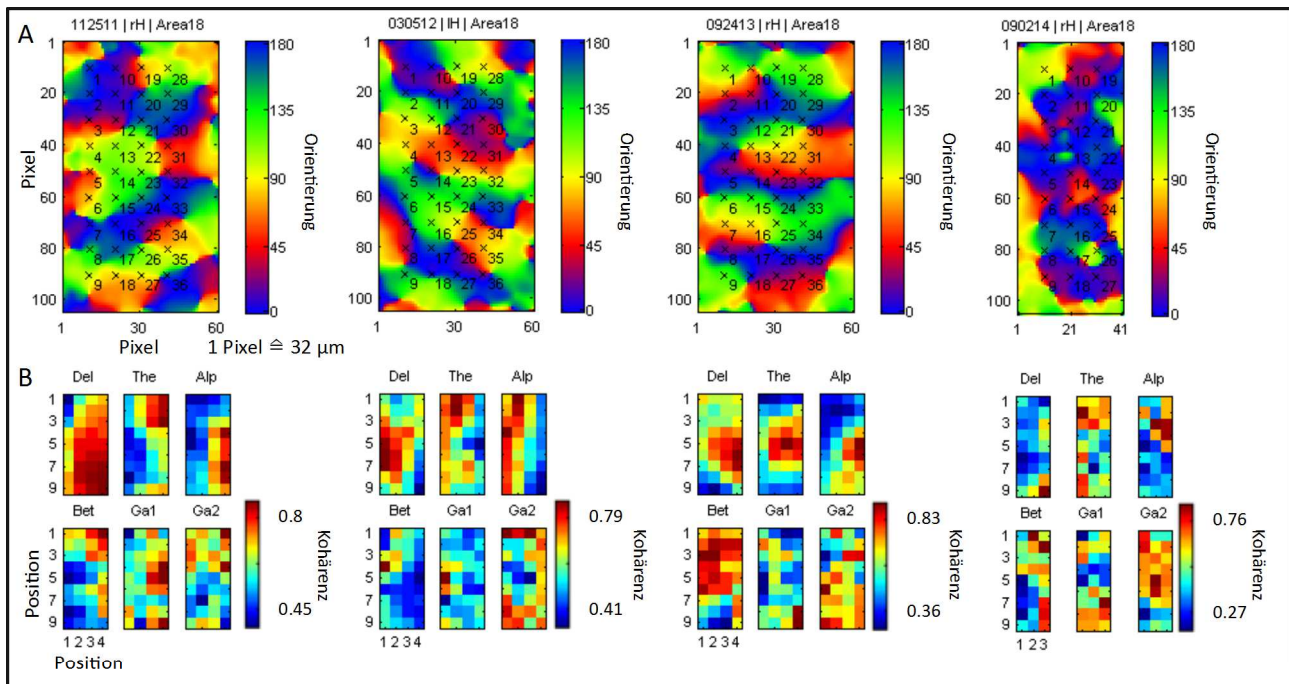
Intervallen der Alpha- und Betafrequenzen, welche sich in Phasen der Stimulation deutlich verringert. Theta- und Gammafrequenzen zeigen während der Stimulation weiterhin eine erhöhte Kohärenz.



**Abbildung 60:** Kohärenz zwischen Area 18 und PMLS in Phasen der Grundaktivität (grau) und während der Stimulation (schwarz).

Zusätzlich wurde die Kohärenz zwischen dem LFP des PMLS und den optischen Signalverläufen in räumlicher Auflösung bestimmt. Die VSDI-Karten wurden dazu in ein regelmäßiges Gitter aus 4 x 9 Positionen unterteilt (Abbildung 61, A). Für jede Position wurde die mittlere Amplitude innerhalb eines 4 Pixel (128  $\mu\text{m}$ ) Radius gemittelt. Für VSDI-Signalverläufe jeder gemittelten Position wurde wiederum die Kohärenz zur jeweiligen PMLS-Elektrode berechnet und über alle Trials gemittelt. Während Delta-, Theta und Alphanbänder eine hohe und zusammenhängende Kohärenz zur Gesamtfläche der VSDI-Karten bilden, ist für die Beta- und Gammabänder eine deutliche Fragmentierung des lokalen Zusammenhangs erkennbar (Abbildung 61, B).





**Abbildung 61:** A) Orientierungspräferenzkarte mit nummerierter Bereichsunterteilung (1 – 36 Positionen). B) Über alle Trials gemittelte Kohärenz zwischen den VSDI-Signale jeder Position mit dem LFP-Signal der PMLS-Elektroden (Frequenzbänder : del = Delta, the = Theta, alp = Alpha, ga1/ga2 = Gamma).

## 8. Diskussion

In der Einleitung wurde zunächst eine Übersicht zur Weiterleitung visueller Signale an das visuelle System gegeben und die kolumnäre Organisation des primären visuellen Kortex der Katze vorgestellt. Außerdem wurde auf Integrationsmechanismen sensorischer Reize eingegangen, deren Untersuchung einen Teil der vorliegenden Arbeit darstellt. Physiologische Studien an sensorischen Arealen im Gehirn von Wirbeltieren haben in den letzten Jahrzehnten den Nachweis erbracht, dass neuronale Zellpopulationen in den oberen Schichten des Kortex in Netzwerken organisiert sind, die selektiv auf Kombinationen spezifischer Stimuluskonfigurationen reagieren. Seit der ersten Beschreibung z.B. im visuellen Kortex von Katzen (Hubel & Wiesel, 1962) und der Weiterentwicklung von Ableittechniken, mathematischer Analysemethoden, sowie der Verwendung theoretischer Modelle, wurden eine Vielzahl von Experimenten durchgeführt, um die Funktionsweise dieser neuronalen Systeme aufzuklären (Swindale et al., 1987; Bonhoeffer & Grinvald, 1991). Die anfängliche Strategie der Datenanalyse ging dabei von einer relativ konstanten neuronalen Antwort auf externe visuelle Stimulationen aus. Messungen neuronaler Aktivität als Reaktion auf sensorische Stimulationen haben jedoch seit jeher gezeigt, dass das evozierte Antwortmuster, sei es auf Einzelzellniveau oder über neuronale Populationen hinweg, sehr variabel ausfallen können. Die beobachtete Variabilität in einzelnen Datensätzen wurden Störsignale aufgefasst, die durch Mitteln aus dem evozierten Signalverlauf entfernt werden können. Methodisch ging man dabei bisher von einem linearen Superpositionsprinzip zwischen zufällig auftretendem Hintergrundrauschen und einem repetitiven, stereotypen Signal aus (Gerstein et al., 1999). Diese Ansicht wurde in den letzten Jahren zunehmend in Frage gestellt. Die Verbesserung sowohl optischer als auch elektrophysiologischer Techniken zur simultanen Aufnahme neuronaler Netzwerke in Echtzeit mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung ermöglichten erstmals die Analyse auf Niveau von Einzelaufnahmen. Dabei hat sich gezeigt, dass eine seit jeher beobachtete Variabilität in den Daten nicht ausschließlich statistisch zufälligen Ursprungs ist, sondern reale Zustände einer hochdynamischen kortikalen Aktivität widerspiegelt. Aus dieser Erkenntnis entwickelten sich die zentralen Fragen der systemischen Neurophysiologie, nämlich wie das Gehirn Informationen in diesen dynamischen Netzwerken kodiert und welchen Einfluss modulatorische Mechanismen auf die Informationsverarbeitung und Variabilität des Antwortverhaltens ausüben. In weiterführenden Studien wurde die durch das Mitteln verlorengelassene Variabilität während der Stimulation als auch in Phasen der Grundaktivität, im Zusammenhang mit spontanen Aktivitätsdynamiken betrachtet (Arieli et al., 1996; Fries et al., 2001; Kenet et al., 2003; Ergenoglu et al., 2004; Womelsdorf et al., 2006; McMains et al., 2007; Sestieri et al., 2008; van Dijk et al., 2008). Mit der Entwicklung spannungssensitiver Farbstoffe wurde die optische Erfassung der räumlichen Aktivitätsdynamik ganzer Zellpopulationen, insbesondere der oberen

Kortexschichten, ermöglicht (Shoham et al., 1999). Die Variabilität evozierter neuronaler Antwortdynamiken und die spontane Aktivität sind seither zunehmend in den Fokus aktueller Forschung gerückt. Steigendes Interesse besteht in der Aufklärung von Wechselwirkungen spontaner Zustände mit unmittelbar nachfolgenden Antwortdynamiken. Mit der weiteren technischen Entwicklung und mathematischen Analysemethoden konnte in einer zunehmenden Zahl von Studien nachgewiesen werden, dass die Variabilität von Antwortmustern, die durch einzelne Stimuluspräsentationen hervorgerufen werden, durch die fortlaufenden Muster erklärt werden kann, die der Stimulation unmittelbar vorausgingen. In den von Tsodyks, Arieli und Grinvald (Tsodyks et al., 1999) geleisteten Pionierarbeiten und der Weiterentwicklung bildgebender, räumlich hochauflösender Verfahren rund um spannungssensitive Farbstoffableitungen konnte gezeigt werden, dass Struktur und Signalstärke spontaner Aktivität häufig vergleichbar mit evozierter Aktivität sind und einen linearen, modulatorischen Zusammenhang zur nachfolgenden Antwortvariabilität aufweisen. Dieser Beweis für die Integration einer deterministischen Reaktion auf die sensorischen Eingaben in die laufende Netzwerkdynamik untermauerte das Argument, dass andauernde, spontane Aktivität das neuronale Substrat für die Abhängigkeit der Verarbeitung sensorischer Informationen vom Kontext sowie von Verhaltens- und Bewusstseinszuständen liefern kann und die Variabilität neuronaler Antwortmuster einen realen Verarbeitungszustand darstellt.

## **8.1 Bereinigung der optischen Daten**

Voltage-Sensitive-Dye-Imaging (VSDI) ermöglicht die Erfassung kortikaler Dynamiken, die eine raumzeitliche Komplexität aufweisen, deren Prozessierung alles andere als Trivial und darüber hinaus abhängig von einer robusten, vorangehenden Aufbereitung ist (Muller et al., 2017). Der Signalverlauf wird, wie in anderen Verfahren auch, durch eine Reihe technischer wie biologischer Störsignale verunreinigt, deren Vermeidung oder Reduktion ein zentraler Schritt der Datenprozessierung auf Weg zur Analyse von Einzelaufnahmen darstellt. Die Signalamplitude optischer Bildaufnahmen wird in der Regel als Division der funktionalen Aktivität durch die totale Fluoreszenz angegeben ( $\Delta F/F_0$ ), was einer Normalisierung der inhomogenen Illumination entspricht. Der resultierende Signalverlauf wird als Maß für die räumliche und zeitliche Populationsaktivität betrachtet. Im Fall von VSDI in vivo folgt diesem Schritt meist die Subtraktion des arithmetischen Mittels der Grundaktivität, um Herzschlagartefakte durch Blutvolumenverschiebung im Gewebe zu reduzieren. Die Synchronisation der Aufnahmen mit dem Herzschlag ist jedoch keine Garantie für eine stabile Phasengleichheit und Frequenz des Herzschlagartefakts im optischen Signalverlauf der Grundaktivität zu den stimulierten Aufnahmen. In der vorliegenden Arbeit konnte bestätigt werden, dass diese oft als „Blank-Step“, bzw. Blanksubtraktion (BKS) bezeichnete Aufreinigung zu systematischen Fehleinschätzungen bei Vergleichen cytoarchitektonischer Areale und Trial-Trial-Variabilität führt (Takagaki



et al., 2008; Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017). Die evozierte Signalverlauf wird dabei mit spontanen Fluktuationen vermischt, wenn die Grundaktivität einzelner Aufnahmeserien verwendet wird. Oft wird deshalb die Grundaktivität über alle Aufnahmeserien gemittelt („cocktail – blank“), was jedoch die Abweichung in der ganzen Normalisierungsebene erhöht (Kalatsky & Stryker, 2003). Des weiteren hängt die Signalstärke von der Qualität der Färbung ab und unterliegt Zerfallsprozessen, die entweder auf photodynamisches Bleichverhalten oder niederfrequente physiologische Fluktuationen zurückzuführen sind (Mayhew et al., 1996). Ansätze zur Entfernung von Störkomponenten aus optischen Signalen basieren oft auf „principal component analysis“ (PCA), „independent component analysis“ (ICA), „indicator functions“ (IF) oder „linear model regression“ (LM) (Reynaud et al., 2011). Das VSDI-Signal enthält jedoch räumliche und zeitliche Dynamiken, die mit Grundannahmen zur Anwendbarkeit von PCA und ICA nicht vereinbar sind (Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017). Eine aus der fMRI bekannte Methodik zur Identifikation, Reduktion und Entfernung von Bleicheffekten, physiologischen, mechanischen und elektrischen Störquellen wurde für die Anwendung auf VSDI vorgeschlagen (Reynaud et al., 2011; Muller et al., 2017). Die lineare Dekomposition zeitlich abhängiger Signale, im folgenden LM, findet Verwendung in einer Vielzahl optischer Ableitverfahren, z.B. beim Intrinsic- oder Calcium-Imaging, sowie beim fMRI. Modifikationen des Verfahrens für die vorliegende Arbeit werden im Folgenden behandelt. Das schwache Signal-Rausch-Verhältnis und die räumliche Dynamik des VSDI-Signals stellt hierbei besondere Anforderungen an die Aufbereitung. Die Entfernung von Störsignalen aus dem rohen Signalverlauf ist der entscheidende Faktor für Langzeitmessungen und Beständigkeit der Signalqualität, insbesondere wenn auf dem Niveau von Einzelaufnahmen gearbeitet werden soll. Die Analyse spontane Aktivität setzt voraus, dass ausschließlich technische oder mit Herzschlag und Atmung korrelierende Störkomponenten aus dem Signalverlauf entfernt werden. Anders als von Reynaud et al. (2011) bei Affen beschrieben, ist die Herzschlagkomponente bei Katzen im Rohsignal schwächer repräsentiert und konnte nicht über eine einfache Fitfunktion angenähert werden. Das Herzschlagartefakt verändert zum einen durch Pulsationen der Kortexoberfläche die Fokusebene der Kamera und damit die globalen Lichtverhältnisse. Des weiteren können weiterhin spektrale Anteile der Anregung oxigenierter und desoxygenerter Durchblutungsphasen in den peripheren Kortexgefäßen das VSDI-Signal überlagern. Das Herzschlagartefakt trat i.d.R. als globale, annähernd periodische Störkomponente mit hoher Amplitude auf, wodurch sich die Herzschlagfrequenz über das globale Mittel aller Pixel der VSDI-Karten ermittelt ließ. Durch den direkten Vergleich konnte gezeigt werden, dass die Frequenz des modellierten Herzschlags mit dem EKG übereinstimmt und zwischen beiden Signalen im Mittel eine stabile Phasenverschiebung von 100 ms besteht. Es sei erwähnt, dass im Sinne der Vitalüberwachung die Herzschlagfrequenz kontinuierlich gemessen wurde und in Fällen der Zunahme von Unregelmäßigkeiten die Anästhesie und das Befinden des Versuchstieres überprüft wurde. Gegebenenfalls

wurde die Aufnahmephase unterbrochen, um durch kardiale Arrhythmien hervorgerufene zusätzliche Artefakte im VSDI-Signal zu vermeiden. Daraus resultieren die in Tabelle 4 aufgeführten, geringen Schwankungen um die mittleren Herzschlagraten trotz mehrstündiger Messzeiten. Ein Vergleich zwischen BKS- und LM-Methode hat ergeben, dass die Trial-Trial-Variabilität der optischen Aufnahmen durch Verwendung der LM-Methode bis zu fünffach geringer ausfällt. Außerdem wurden VSDI-Karten in der vorliegenden Arbeit grundsätzlich ungefiltert ausgewertet. In weiterführenden Studien konnte gezeigt werden, dass durch das in frühen Veröffentlichungen übliche räumliche Filtern Signalanteile aus den VSDI-Daten entfernt wurden, die zunehmend mit Mechanismen der Informationsübertragung und Spontanzuständen in Verbindung gebracht werden und eine signifikante Rolle bei der Beurteilung des „Brain State“ und der Netzwerkdynamik spielen (Shimaoka et al., 2017).

## **8.2 Überprüfung der Funktionalität**

Kortikale Neurone des visuellen Systems weisen ein hohes Maß an Antwortselektivität auf und werden entsprechend ihrer Antwortpräferenzen in Kolumnen eingeteilt (D. H. Hubel & Wiesel, 1962). Die Kolumnen sind in regelmäßigen Abständen angeordnet und decken die gesamte kortikale Projektion des Gesichtsfeldes auf den Kortex in Form eines modularen Systems aus reizspezifischen Neuronen ab. Es wird angenommen, dass die Selektivität dieser Zellen und ihre modulare Anordnung aus Wechselwirkungen im Netzwerk spezifischer intrakortikaler und thalamokortikaler Verbindungen resultiert (Schmidt et al., 1999). Seit der ersten Beschreibung der Orientierungselektivität im visuellen Kortex von Katzen (Hubel & Wiesel, 1962) wurden eine Vielzahl Experimente (Swindale et al., 1987; Bonhoeffer & Grinvald, 1991; Hebb, 2005) durchgeführt, um die Funktionsweise dieses neuronalen Systems aufzuklären. Elektrophysiologische Ableitungen einzelner Neurone in den Arealen 17 und 18 des primären visuellen Kortex der Katze haben gezeigt, dass eine orthogonale Beziehung zwischen richtungs- und orientierungsspezifischen Regionen der Zellpopulationen dieser Areale existiert. Später konnte diese Entdeckung durch optische Messverfahren bestätigt werden, die räumliche und zeitliche Aufnahmen der Populationsaktivität ganzer Areale ermöglichten (Shmuel & Grinvald, 1996). Dabei wurde die topographische Organisation des visuellen Kortex der Katze als anschauliches System etabliert.

Im primären visuellen Kortex wurden solche parallelen Messungen dank der Fortschritte bei der Bildgebung mit spannungsempfindlichem Farbstoff (VSD) möglich. Das VSDI-Signal spiegelt die summierte Aktivität in den Schichten II/III wider, aus denen u.a. die Feedforward-Verbindungen zum PMLS-Kortex hervorgehen (Petersen et al., 2003; Grinvald & Hildesheim, 2004; Sharon et al., 2007). In der vorliegenden Arbeit wurde die Dynamik kortikaler Antwortfelder in Area 18, die im durch orientierte und bewegte Balkenmuster

hervorgerufen wurde, optisch untersucht. Parallel wurde das hierarchisch höhere Areal PMLS elektrophysiologisch abgeleitet. Zunächst wurde die optischen Aufnahmen gemittelt, um grundsätzliche Eigenschaften der in der Einleitung aufgeführten Funktionalitäten zu prüfen. Es konnte gezeigt werden, dass evozierte VSDI-Aufnahmen des primären visuellen Kortex der Katze (Area 18) im Mittel stimulationsspezifische, stationäre Antwortstrukturen ausbilden. Die Präsentation von hoch kontrastierten Balkenmustern gleicher Orientierung aber entgegengesetzter, orthogonal zur Orientierung stehender Bewegungsrichtung erzeugten dabei ähnliche Antwortstrukturen. In Area 18 sind sowohl bewegungs-, als auch orientierungsspezifische Kolumnen zu finden. Da das Stimulationsmuster jedoch primär Orientierungskolumnen anspricht, wurde die Bewegungsinformation aus den Karten herausgemittelt und Orientierungspräferenzkarten für die vier Hauptorientierungen der Balkenmuster erstellt. Es zeigten sich die für das visuelle System der Katze typische, kolumnäre Organisation. Eine Analysefläche von etwa 3,2 x 2 mm beinhaltet etwa 6 – 8 Kolumnen. Die Auswertung der in Area 18 implantierten ECoG-Elektroden in drei von vier Experimenten hat ergeben, dass in Phasen der anästhesierten Grundaktivität die mittlere spektrale Leistungsdichte in den Frequenzbändern der Delta-, Theta-, Beta- und Alphawellen (Tabelle 3) erhöht ist, was auch als Folge der Anästhesie mit Halothan berücksichtigt werden sollte. Der Effekt betrifft jedoch primär die initiale Injektionsphase, in der ein Anstieg langsamer Oszillationen verursacht wird. Während der Stimulation steigt die mittlere spektrale Leistungsdichte in den Gammafrequenzen und sinkt in allen anderen Frequenzbändern. Gammafrequenzen werden in Verbindung mit neuronalen Feedforward-Systemen gesetzt (Einstein, 1996; Castelo-Branco et al., 1998; Callaway, 2004; Bastos et al., 2015) und in Kapitel 8.4 behandelt. Das visuelle System wechselt also selbst unter Anästhesie des Versuchstieres meist signifikant in einen dem Wachzustand ähnlichen Aktivitätsmodus. Es besteht die Vermutung, dass ein Defekt der Elektroden oder eine unzureichende Impedanz für den untersuchten Frequenzbereich vorlag. Über die histologische Rekonstruktion kresylviolett gefärbter Gewebeschnitte konnte für drei von vier Experimenten die Lage von mindestens einer der acht in PMLS implantierten Elektroden eindeutig bestimmt werden. Auch hier wurden die Frequenzbänder mittleren Leistungsspektren des LFP-Signals untersucht. Es zeigt sich ein ähnliches Verhalten zu den ECoG-Elektroden in Area 18. Abweichend steigt im Betaband während der Stimulationsphase die Leistung gegenüber der Grundaktivität an. Alpha-, und insbesondere Betafrequenzen werden in Verbindung mit neuronalen Feedback-Systemen gesetzt (Michalareas, 2016) und in Kapitel 8.4 behandelt. Das Tuning und nachfolgende Spike-Clustering, sowie die Bestimmung der Zelldichte ließen den Schluss zu, dass Aktionspotentiale von etwa 1-4 Zellen pro Elektrode und Experiment abgeleitet wurden. Es konnten für alle Experimente ähnliche Feuerraten festgestellt. Die in Schicht V abgeleiteten Einzelzelle zeigte eine ausgeprägte Reizpräferenz und geringe Trial-Trial-Variabilität. Schicht V besteht aus Pyramidenzellen mit großen Zellkörpern (Einstein, 1996). Es ist also sehr wahrscheinlich, dass es sich hier

um eine SUA-Ableitung hält. Schicht III des Experiments 112511 zeigte im Spike- Clustering den Fall einer möglichen Multi-Unit-Ableitung und daher ein eher unspezifisches Antwortverhalten mit starker Streuung. Schicht III setzt sich aus mittelgroßen Pyramidenzellen zusammen Da sich in Schicht IV keine Pyramidal-, sonder überwiegend granuläre Zellen befinden, zeigte sich nur eine unspezifische Feuerrate intrinsischer Aktivität mit starker Streuung über die Trials. Die Organisation und primäre Selektivität der PMLS-Neuronen auf Bewegungs- oder Orientierungsreize ist weiterhin Teil anhaltender Diskussion (Dreher et al., 1996). In der vorliegenden Arbeit konnten alle Möglichkeiten beobachtet werden.

### **8.3 Raum-zeitliche Dynamik spontaner Aktivität**

Die Weiterentwicklung optischer Ableitmethoden wie dem VSDI-Imaging ermöglichte die Dynamik von Einzelaufnahmen erstmals in räumlich-zeitlich hochaufgelöster Form zu analysieren und synchronisierte Spontanzustände ganzer Populationen von Neuronen nachzuweisen (Arieli et al., 1996, Kisley et al., 1999). In Nachfolgestudien konnte gezeigt werden, dass einzelne Neuronen sowie ganze Populationen in Hirnarealen, auch ohne externe Stimulation in Phasen der Grundaktivität Aktivitätsmuster generieren, die einer evozierten Antwortstruktur ähneln und spontane Änderungen des Membrapotentials über viele Neuronen synchronisiert sind (Arieli et al., 1996; Grinvald et al., 1999; Shoham et al., 1999; Tsodyks et al., 1999; Kenet et al., 2003). Mit evozierten Orientierungskarten korrelierende, spontane Zustände spiegeln dabei die funktionelle Architektur des für den visuellen Kortex der Katzen charakteristischen, in Kolumnen organisierten Netzwerks wider. Spontane Phasen vor Stimulationsbeginn können die Stärke der neuronalen Antwort während der Stimulation modulieren und wurden als grundlegender Mechanismus des Ursprungs der Trial-Trial-Variabilität indentifiziert (Arieli et al., 1996; Kenet et al., 2003; Ferezou & Deneux, 2019). Der dabei zunächst als positiv korrelierend beschriebene Zusammenhang zwischen spontaner Aktivität und evoziertem, sensorischen Input wurde in einer Reihe nachfolgender Studien korrigiert. Tatsächlich konnte eine ganze Reihe an Interaktionsmöglichkeiten festgestellt werden, die eine anhaltende Dynamik der Spontanaktivität zeigen und sich aus synchronisierten (globalen) und desynchronisierten (lokalen) Phasen, sowie räumlicher Abhängigkeit zusammensetzt und nicht exklusiv für alle Areale gleichermaßen gelten müssen (Petersen et al., 2003; DeWeese & Zador, 2006; Rudolph et al., 2007; Hromádka, 2008; Ferezou & Deneux, 2019). Aufgrund der weitreichenden Konnektivität im Kortex ist es durchaus möglich, dass nahe gelegene Neuronen Eingänge von unabhängigen Quellen erhalten, auch wenn die präsynaptischen Neuronen synchron feuern. Parallele intrazelluläre Aufzeichnungen weisen jedoch darauf hin, dass Neuronen eines lokalen Netzwerks synaptische Eingänge mit sehr ähnlichen Mustern erhalten. Die Dynamik während eines spontanen Zustands des Netzwerkes zeigt oft einen kohärenten und zwischen räumlichen Positionen bis zu mehrere Millisekunden verzögerten Signalverlauf auf. Diese globale Synchronizität konnte

in elektrophysiologischen und optischen Aufzeichnungen nachgewiesen werden und deutet darauf hin, dass der größte Teil der spontanen kortikalen Aktivität aus Wellen besteht, an deren Ausbreitung große Teile der lokalen kortikalen Schaltkreise beteiligt sind (Lieke et al., 1994; Josic et al., 2009; Sato et al., 2012).

In der vorliegenden Arbeit konnte mittels VSD-Imaging beobachtet werden, dass Wanderwellen sowohl in der Gegenwart als auch in der Abwesenheit von visuellen Reizen ein herausragendes Merkmal in Area 18 darstellen. Die raum-zeitliche Betrachtung des VSDI-Signals hat ergeben, dass Wanderwellen den primären Anteil spontaner Aktivität darstellen. Es konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass kortikale spontane Aktivität progressiv räumlich über mehrere Millimeter des gesamten betrachteten Areals ausbreitet und eine synchronisierte Depolarisation darstellt. Die Richtung der Wellenfront breitete sich meist in lateraler oder medialer Richtung über Area 18 aus. Dies scheint zunächst gegen die geordnete Selektivität entlang der kortikalen Oberfläche zu sprechen. Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass in der Grundaktivität mit evozierten, gemittelten Antwortstrukturen korrelierende Populationen zu finden sind. Spontane Aktivität in Area 18 kann demnach eine Reihe dynamisch wechselnder kortikaler Zustände umfassen, von denen viele eng mit Orientierungskarten korrespondieren. Eine globale Depolarisation überspannt dabei offenbar als Wanderwelle mehrere Hyperkolumnen (siehe Abbildung 48, Abbildung 49), gefolgt von einem Zustand, der einer Orientierungsantwort entsprach. Dabei scheint die Amplitude des Depolarisationszustandes mit der strukturellen Ähnlichkeit antikorreliert zu sein (Abbildung 50). Wanderwellen konnten also auch in dieser Arbeit als global synchronisierte Zustände der Kortexfläche während der Grundaktivität nachgewiesen werden, die offenbar in Wechselwirkung mit desynchronisierten Phasen, lokaler Strukturbildung als Folge einer Inhibition des globalen Signals, steht. Die Verteilung der nach ihrer Antwortstruktur zusammengefassten Spontankarten in der Grundaktivität wiesen außerdem eine von der Hemisphäre abhängige Richtungspräferenz auf, die jeweils zum zentralen Gesichtsfeld hin ausgerichtet ist (siehe Abbildung 3, Abbildung 46). Die fortlaufende Aktivität zeigte charakteristische Auf- und Ab-Zustände, in denen sich die gesamte Netzwerkaktivität zwischen Perioden tonischer Aktivität („Up-States“), die sich möglicherweise als Wellen ausbreiten, und strukturellen Aspekten („Down-States“) abwechselt. Die Rollen dieser Gehirnwellen sind Teil anhaltender Diskussion. Die aktuell führenden Hypothesen gehen davon aus, dass synchrone Oszillationen entweder dazu dienen, Informationen z.B. in Form verschiedener Merkmale eines visuellen Objekts (Form, Farbe, Bewegung usw.) über mehrere Netzwerke zu bündeln oder den Informationstransfer zwischen Regionen erleichtern. Die erste Hypothese erfordert jedoch, dass Oszillationen stehende synchrone Wellen erzeugen. Im zweiten Fall wird von einer sich dynamisch ausbreitende Wellenfront ausgegangen, die unterschiedliche Eigenschaften haben muss, um beispielsweise Informationen über vergangene oder prediktive Zustände anderer Gehirnstandorte

darstellen und transferieren zu können. Vieles deutet darauf hin, dass Wanderwellen sich im Gehirn ausbreiten, und einen potenziellen Mechanismus darstellen, der Informationen von einem Areal zum anderen bewegt (Makin, 2018). Es soll nicht unerwähnt bleiben, dass die Präsentation eines grauen Bildschirms keine optimale Bedingung für die Untersuchung spontaner Aktivität darstellt. Selbst wenn ein uniform ausgeleuchteter Bildschirm ohne Stimulationsmuster gezeigt wird, erfolgt eine geringe, aber feststellbare Stimulation des visuellen Systems durch Flickereffekte im Bereich der Bildwiederholfrequenz, insbesondere in Fällen unter 100 Hz (Singer & Rager, 1998; Logothetis et al., 2009). Dabei kann es zu Phasenkopplungen in der neuronalen oszillatorischen Aktivität und in der Aktionspotentiale kommen. Es konnte aber auch gezeigt werden, dass bei Bildwiederholfrequenzen  $\geq 100$  Hz der Einfluss auf die Feuerraten während der Präsentation eines Stimulationsmusters geringer ausfällt. Im Fall eines räumlich uniform ausgeleuchteten Bildschirms mit Bildwiederholfrequenzen  $\geq 100$  Hz konnte eine Phasenkopplungen nicht in allen Fällen nachgewiesen werden (Lyskov et al., 1998; Singer & Rager, 1998; Williams et al., 2004). Da in dieser Arbeit mit einer Bildwiederholfrequenz von 100 Hz eines bereits in älteren Veröffentlichung bewährten und geprüften System gearbeitet wurde und nur Frequenzbänder unterhalb 100 Hz analysiert wurden, können diese Kopplungseffekte vernachlässigt werden.

#### **8.4 Interareale Interaktionen**

Man nimmt an, dass die Variabilität innerhalb der Spontanaktivität verschiedene Stadien der Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Informationsverarbeitung des Gehirns, die so genannten „brain states“, widerspiegelt und die Variabilität der evozierten, neuronalen Antwort im Zusammenhang mit Modulationsmechanismen der spontaner Signalphasen steht (Fries et al., 2001; Ergenoglu et al., 2004; Womelsdorf et al., 2006; McMains et al., 2007; Sestieri et al., 2008; van Dijk et al., 2008). Die Wahrnehmung visueller Reize beruht nicht nur auf der reinen Verarbeitung externer physikalischer Parameter, sondern wird durch unsere Erfahrungen, Erwartungshaltung und Aufmerksamkeitsprozesse beeinflusst (Gilbert & Sigman, 2007; Gilbert & Li, 2013). Modulationen der Perzeption gehen dabei auf eine wechselseitige Kommunikation zwischen hierarchisch höheren und niederen Arealen zurück. Der Informationsfluss von höheren Arealen zu niederen Arealen wird als „top-down“ Prozess und in umgekehrter Richtung als „bottom-up“ Prozess bezeichnet. Die zugrundeliegenden anatomischen Verbindungen werden in „feedforward“ und „feedback“ Verknüpfungen unterteilt. Während Feedforward-Einflüsse sensorische Signale übertragen, modulieren Feedback-Einflüsse die Feedforward-Signalisierung entsprechend des aktuellen Verhaltenskontextes. Im visuellen System werden Feedforward-Einflüsse durch Theta-Band ( $\sim 4$  Hz) und Gamma-Band ( $\sim 60\text{--}80$  Hz) Synchronisation und Feedback-Einflüsse durch Beta-Band ( $\sim 14\text{--}18$  Hz) Synchronisation übertragen. Die funktional gerichteten Einflüsse weisen eine Hierarchie ähnlich der

anatomischen Hierarchie auf, zeigen jedoch aufgabenabhängige dynamische Veränderungen insbesondere hinsichtlich der hierarchischen Positionen (Bastos et al., 2015). Über die Deaktivierung von PMLS durch reversible Kühlung konnte nachgewiesen werden, dass durch Unterbrechung des Informationsflusses über diese Feedback-Verbindungen die Richtungsselektivität der Neuronen in Area 18 vollständig verloren ging, während Orientierungsselektivität im Wesentlichen erhalten blieb und PMLS somit eine exzitatorische, modulierende Wirkung auf die Antwortstärke der Area 18 Neuronen ausüben kann (Galuske et al., 2002). Top-down Verbindungen werden im Zusammenhang mit Mechanismen der selektiven Aufmerksamkeit diskutiert. In fMRI Studien konnten beispielsweise bei Erhöhung der Spontanaktivität im Parietallappen des menschlichen Gehirns eine Erhöhung der Spontanaktivität in den hierarchisch niedrigeren, visuellen Arealen festgestellt werden (S. K. Ungerleider & Leslie, 2000).

In der vorliegenden Arbeit konnte mittels Kohärenzanalyse gezeigt werden, dass während der Grundaktivität und der Stimulationsphasen der Großteil des betrachteten Frequenzspektrums in Area 18 in erhöhter Synchronizität zu PMLS steht. Eine hohe Kohärenz ermöglicht eine effektive Kommunikation zwischen neuronalen Gruppen (Fries, 2005). Oszillationen aktiver Zellpopulationen erzeugen rhythmische Modulationen der Erregbarkeit, was sowohl die Generierung von Aktionspotentialen als auch die synaptische Aktivität beeinflusst (Buzsaki & Draguhn, 2004; Vögler 2014). Es wird angenommen, dass kohärent oszillierende Populationen von Neuronen über die Synchronizität ihrer synaptischen Aktivität miteinander kommunizieren (Fries, 2005). Die Berechnung der Phasenverschiebung ergab, dass Anteile des Frequenzspektrums ihren Ursprung in PMLS haben. Somit besteht die Möglichkeit, dass PMLS eine modulatorische Funktion auf die Aktivität in Area 18 ausübt. Durch die unterschiedliche Lage der Elektroden kann allerdings keine exakte Aussage zu spezifischen Frequenzbändern gemacht werden. Es hat sich nur gezeigt, dass während der Grundaktivität eine erhöhte Kohärenz im Alpha- und Betaband besteht, die in stimulierten Phasen abnimmt, während die Kohärenz der Gamma- und Thetabande dann stärker hervortreten. Eine räumlich aufgelöste Kohärenzanalyse zwischen einzelnen Positionen in den VSDI-Karten von Area 18 und der PMLS-Elektrode zeigte, dass insbesondere langsame Oszillationen der Delta-, Theta- und Alpha-Bänder einen großen räumlichen Zusammenhang zwischen den Arealen bilden, während die schnelleren Beta- und Gamma-Bänder eine zunehmende räumliche Fragmentierung durch lokale Spezifizierung eingehen (Abbildung 61).

Um die Beziehung zwischen VSDI-Signalen und der Aktionspotentialen in PMLS zu untersuchen, wurde letztere zunächst pixelweise mit den VSDI-Karten korreliert. Es konnte zunächst gezeigt werden, dass in Phasen der Grundaktivität fast die gesamte Fläche der VSDI-Karten positiv mit der lokalen Aktionspotentialen des PMLS korreliert. Analog wurden außerdem die evozierten Feuerraten der

Aktionspotentiale mit dem evozierten VSDI-Signal verglichen. Dabei zeigte sich im Fall der eindeutig auf eine Stimulation getunten Feuerraten, dass aus der supragranuläre Schichten II/III des PMLS stammende Aktionspotentiale (112511) eine räumlich geringere Fläche und aus der infragranulären Schichten 5 stammenden Aktionspotentiale (092413) eine räumlich größere Fläche des Areals 18 positive mit den Feuerraten korreliert. In histologischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass axonale Verbindungen aus den supragranuläre Schichten II/III des PMLS eine geringe räumliche Divergenz und Verbindungen aus der infragranulären Schichten 5 eine höhere Divergenz in Area 18 aufweisen (Jähner, 2013). Die daraus abgeleitete Hypothese eines dualen Feedback-Systems wird durch physiologische Befunde unterstützt, die zeigen konnten, dass Feedback-Verbindungen aus dem PMLS sowohl lokale, als auch globale Auswirkung auf das neuronale Antwortverhalten in den Arealen des primären visuellen Kortex ausüben können (Galuske et al., 2002; Schmidt et al., 2011; Jähner, 2013). Eine histologische Aufarbeitung der axonalen Verknüpfungen wurde in dieser Arbeit nicht ausgeführt. Eine direkte Verbindung zwischen den Ableitorten ist daher rein spekulativ. Die räumlich abhängige, positive Korrelation der Feuerraten mit dem VSDI-Signal in Area 18 lassen jedoch die Annahme eines großflächigen Zusammenhangs zu. Die einzelnen Aufnahmeserien der als raum-zeitlich gemittelt definierten Spontanaktivität in Area 18 wurden in perzentile Testgruppen hoher und niedriger Spontanaktivität unterteilt und die Streuung der jeweils zugehörigen Feuerraten des PMLS betrachtet. Es konnte eine signifikante Zunahme der Feuerraten von Aktionspotentialen in PMLS während erhöhter spontaner Aktivität in Area 18 festgestellt werden. Ein direkter Vergleich der Signalverläufe des raum-zeitlich gemittelten VSDI-Signals von Area 18 und des PSTH der Feuerraten des PMLS zeigte, dass mit Einsatz der Stimulation zunächst das VSDI-Signal mit einer Latenz von ca. 100 – 120 ms anstieg. Die Feuerraten in PMLS wiesen eine zeitlich um etwa 30 ms versetzten Anstieg nach dem VSDI-Signal auf. Außerdem konnte in den ersten 300 – 400 ms nach Stimulationsbeginn ein annähernd kohärenter Verlauf des Anstiegs der mittleren Feuerraten in PMLS und des VSDI-Signals in Area 18 festgestellt werden. Etwa 400 ms nach Stimulationsbeginn trat eine strukturelle Stabilisierung des VSDI-Signals ein, das von einer Erniedrigung der Feuerraten in PMLS begleitet wurde. Das Antwortverhalten besteht also aus mindestens drei Phasen. Dadurch folgt nicht nur eine räumlich-strukturelle, sondern auch zeitliche Variabilität, die auf Modulationsmechnismen während der evozierten Antwortphase schließen lässt (Kisley & Gerstein, 1999; David, Kilner, & Friston, 2006).

## **8.5 Einfluss spontaner Aktivität auf die Datenvariabilität**

Zunächst erscheint es intuitiv, dass ein sensorischer Reiz die Antwortdynamik eines spezifischen neuronalen Netzwerks auf eindeutige Muster und Antwortstärken beschränkt. Auf Basis von Einzelaufnahmen konnte auch in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden, dass Hirnareale auch ohne externe Stimulation, also in



Phasen der Grundaktivität, spontane Aktivitätsmuster generieren. Diese werden zunehmend einer internen Informationsverarbeitung zugeordnet, die mit der hohen Variabilität evozierter kortikaler Antworten, in vorliegenden Fall bei visueller Stimulation, in Verbindung gebracht werden (Arieli et al., 1996). Die Rolle der Variabilität wurde bisher im Kontext von Einzelzelleableitungen untersucht (Butts & Goldman, 2006; Churchland et al., 2010; M. R. Cohen & Kohn, 2011; Gollnick et al., 2016), wohingegen der Ursprung und räumliche Effekte auf Populations- und interarealer Ebene noch weitestgehend unbekannt sind (Schölvinck et al., 2015). Im visuellen Kortex können Repräsentationen erfahrungsabhängigen Veränderungen unterliegen (Galuske et al., 2019). Während sich die Zuordnung und Spezialisierung von kolumnär organisierten Neuronen des visuellen Kortex als stabil erwiesen hat (Abbildung 44), zeigt ihre zusammenhängende Reaktionsdynamik bei einzelnen Versuchsaufzeichnungen hohe Variabilitäten für identische Reizmuster (Abbildung 52). Diese Dynamik könnte einen zugrunde liegenden Mechanismus beinhalten. Ein zentrales Merkmal spontaner Aktivitäten sind dabei Wanderwellen (Mohajerani et al., 2010), die einen synchronisierten kortikalen Zustand darstellen (Harris & Thiele, 2011, Sato et al., 2012). Es konnte gezeigt werden, dass spontane Aktivität eine Rolle bei der zeitlichen Entwicklung funktioneller Netzwerke und der Verarbeitung interner und externer Signale durch Modulation des Antwortverhaltens spielt (Kisley & Gerstein, 1999; Tsodyks et al., 1999).

In dieser Arbeit wurde der Einfluss spontaner Aktivität im primären visuellen Kortex der Katze auf das neuronale Antwortverhalten auf eine einfache visuelle Stimulation untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass die generelle Antwortselektivität in Form der strukturellen Organisation funktioneller Karten im Wesentlichen unverändert blieben (Abbildung 44). Verschiedenen Studien zur Untersuchung kortikaler Membranpotential von Mäusen, die an einer taktilen Erkennungsaufgabe beteiligt sind, ergaben, dass der anhaltende kortikale Zustand zwar die evozierte sensorische Reaktion beeinflusst, jedoch keinen Einfluss auf das Verhalten des Tieres hatte (Ferezou & Deneux, 2019). Eine Wechselwirkungen zwischen spontanen Fluktuationen und Reizreaktionen zeigte sich jedoch in der Antwortamplitude. Diese nahm mit der Erhöhung der Spontanaktivität in den meisten Fällen zu. Allerdings konnten auch hemmende Einflüsse auf Populationen beobachtet werden, die jedoch im Mittel an der evozierten Antwort beteiligt waren. Diese Beobachtung war von der Bewegungsrichtung des Balkenmusters abhängig. Der Einfluss des als möglich betrachten PMLS-Feedbacks auf die Repräsentation der Orientierungen in Area 18 ist sowohl durch eine Erhöhung, als auch durch eine vom visuellen Reiz abhängige räumliche Inhibition der neuronalen Aktivität erkennbar. Depolarisierende, global auftretende Wanderwellen werden als ein wichtiges Element spontaner Aktivitätszustände in kortikalen Arealen diskutiert (Ferezou & Deneux, 2019). Diese Wanderwellen können mit der langsamen und periodischen Oszillationen zusammenhängen, die im visuellen Kortex unter

Anästhesie, während des Nicht-REM-Schlafs oder in stillem Wachzustand beobachtet werden (Petersen et al., 2003b; Sakata und Harris, 2009; Steriade et al. 1993). Während solcher synchronisierten kortikalen Zuständen weisen durch Reize hervorgerufene Antwortsignale typischerweise eine große Amplitude auf, die oft, aber nicht exklusiv, antikorreliert mit der unmittelbar vorangehenden Grundaktivität sein können (Ferezou et al., 2019). Kortikale Aktivität wird unterdrückt, wenn der Kortex von einer langsamen Wellenaktivität in einen desynchronisierten, durch lokale Strukturen gekennzeichneten Zustand wechselt, der typisch für aktive Wachheit ist. Mehrere neuere Studien weisen jedoch darauf hin, dass diese Wechselwirkung in primären visuellen Kortex umgekehrt ist oder, wie in dieser Arbeit beobachtet, beide Fälle in Abhängigkeit der betrachteten Stimulationsbedingung und der betrachteten Fläche vorliegen (Schölvinck et al., 2012). Weiterführende Studien haben gezeigt, dass die Variabilität der sensorisch hervorgerufenen Reaktionen im Kortex von Versuch zu Versuch als eine lineare Überlagerung von zufällig fortschreitender Hintergrundaktivität und einer stationären Reizantwort erklärt werden kann (Kisley & Gerstein, 1999). Dabei scheinen Inhibitionsmechanismen bei der Gestaltung der spontanen und sensorisch hervorgerufenen kortikalen Aktivität eine große Rolle zu spielen (Isaacson & Scanziani, 2012). Man sollte außerdem bedenken, dass das VSDI-Signal in Area 18 zwar hauptsächlich die dendritische Aktivität exzitatorischer Neuronen in Schichten II/III widerspiegelt, jedoch der Beitrag inhibitorischer wie exzitatorischer Einflüsse von den thalamischen wie interkortikalen Eingängen abhängig sind (Muller et al., 2017). Der visuelle Kortex wird kontinuierlich mit visuellen Informationen konfrontiert, die schnell und effizient verarbeitet werden müssen, um eine geeignete Antwort zu generieren. Eine Möglichkeit dieser Anforderung gerecht zu werden besteht darin, neuronale Antworten auf eingehende Informationen auf Basis von Erfahrungen vorherzusagen (Mumford, 1992; Rao & Ballard, 1999; Lee & Mumford, 2003; Friston, 2005). Bezüglich Verarbeitung visueller Informationen und ihrer Modulation durch spontane Aktivität, ausgehend von top-down Mechanismen, sind ursprünglich zwei Theorien in den Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen gerückt, das „Predictive coding“ und die „Bayesian Interference“, die aktuell als Gesamtmodell, dem „Bayesian Predictive Coding“, aufgefasst wird (Aitchison, 2017). Die Theorie des „Predictive Coding“ geht davon aus, dass Informationen hierarchisch höherer Areale über feedback Verbindungen kontinuierlich ein der Stimulation ähnliches Aktivitätsmuster determinieren, das auf Basis von Erfahrungen und Kontexten aus der Erinnerung generiert wird. Das generierte Signal wird mit der evozierten Aktivität verglichen und die Informationen der Übereinstimmung oder Diskrepanz wird wieder an höhere Areale über feedforward Verbindungen zurückgesandt (Rao & Ballard, 1999). Die Vorhersage wird dadurch für die nächste Übermittlung anhand des Fehlersignals aktualisiert. In der Folge sollte die spontane Aktivität der Grundaktivität vor jeder Stimulation eine zunehmend erhöhte strukturelle Ordnung aufweisen. In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Zusammenhang nicht festgestellt werden. Die Theorie

der „Bayesian Interference“ geht davon aus, dass hierarchisch höhere Areale über feedback Verbindungen auf Erfahrung basierte Vorhersagen an niedrigere Areale übermitteln. Anders als das „Predictive Coding“ werden Vorhersage und evoziertes Signal jedoch nicht verglichen, sondern bei Übereinstimmung die Vorhersage an das evozierte Signal angepasst, wodurch sich die Signalstärke der Stimulusantwort durch Akkumulation der Informationen verstärkt. Bereiche mit Diskrepanzen werden dagegen unterdrückt. In der Folge sollte eine erhöhte strukturelle Ordnung in der Grundaktivität im Fall einer Übereinstimmung die Verstärkung des evozierten Signals bewirken, während bei Diskrepanzen eine zumindest kurzzeitige Hemmung des Signals eintreten sollte. In der vorliegenden Arbeit konnten dieser Zusammenhang für den Großteil der Stimulationsbedingungen hergestellt werden. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Hemmung oder Verstärkung der evozierten Populationsantworten durch vorangehende Spontanaktivität eine räumliche Abhängigkeit bezüglich der Bewegungsrichtung des präsentierten Balkenmusters aufwies. Darüber hinaus steigt mit erhöhter spontaner Aktivität die zeitliche Variation des Antwortverhaltens. Daraus entstand die Idee, dass in diesem Zusammenhang beobachtet Wanderwellen durch wiederholtes Überqueren von Kortexbereichen die Empfindlichkeit von Neuronen modulieren, um als eine Art „Scheinwerfer“ eine andauernde Überprüfung des Aufmerksamkeitszustandes über den visuellen Verarbeitungsbereich des Gehirns zu lenken (Davis et al., 2002). Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass fortlaufende Aktivitäten die Zusammenfassung früherer Sinneserfahrungen oder die Erwartung möglicher Sinnesereignisse widerspiegeln. Alternativ könnte die fortlaufende Aktivität mit Verhaltens- und kognitiven Zuständen zusammenhängen, wobei dynamisch wechselnde kortikale Zustände den internen Kontext des Gehirns repräsentieren und daher Gedächtnis, Wahrnehmung und Verhalten reflektieren oder beeinflussen könnten (Kenet et al., 2003).

Die Funktion der Großhirnrinde hängt entscheidend vom Gleichgewicht zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Neurotransmittersystemen ab. Davon sind spezifische Antworten des visuellen Systems auf Orientierungs- und Richtungsselektivität sowie die spontane Aktivität betroffen. Der Ursprung des in den VSD-Signalen beobachteten DA-Notch zu Beginn einer Stimulation wird als emergente Signatur für ein vorübergehendes Ungleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung und für die Erregbarkeit des kortikalen Netzwerks angesehen. Zu Beginn der Stimulation besteht für die Hemmung die Möglichkeit, die Erregung vorübergehend zu unterdrücken, bevor sie durch das reziproke kortikale Netzwerk wieder ins Gleichgewicht gebracht wird. Die Informationsverarbeitung im sensorischen Kortex beruht auf Wechselwirkungen zwischen erregenden und hemmenden Kreisläufen, die durch eine Vielzahl von GABA-ergen (Gamma-Aminobuttersäure) Interneuronen vermittelt werden (Markram et al., 2004; Ascoli et al., 2008). Es wurde vorgeschlagen, dass die GABA-Hemmung im primären visuellen Kortex (V1) eine grundlegende Rolle bei der Festlegung der Selektivität für Stimulusorientierung und Bewegungsrichtung

spielt (Rose & Blakemore, 1974; Tsumoto et al., 1979; Vidyasagar et al., 1996; Ferster & Miller, 2000; Markram et al., 2004; Katzner et al., 2011). Dabei ist unklar, ob es sich um funktionelles oder durch das Anästhetikum induziertes Merkmal handelt (Davis et al., 2002; Muller et al., 2017). Der DA-Notch wird als Folge einer durch Anästhesie ausgelösten Desynchronisation zwischen Anregung und Hemmung diskutiert (Chemla & Chavane, 2010; Kisley & Gerstein, 1999). Die Stärke des DA-Notch und die Auswirkung der Desynchronisation auf die Verläufe der neuronalen Stimulationsantwort wäre damit dosisabhängig (Muller et al., 2017). Viele Anästhetika, einschließlich des hier verwendeten Halothans, verlängern das Abklingen von GABA-Rezeptor-vermittelten IPSCs (Inhibitorische Postsynaptische Ströme) an zentralen Synapsen (Li & Pearce, 2000). Es wird angenommen, dass die GABA-Inhibition mehrere Rollen im sensorischen Kortex spielt, z. B. die Steuerung der Reaktionsfähigkeit und Empfindlichkeit, die Schärfung der Selektivität und die Vermittlung kompetitiver Interaktionen, wobei primär die Antwortstärke der Neuron angepasst wird (Katzner et al., 2011). Vergleiche des evozierten DA-Notch zwischen der bevorzugten und der dazu orthogonalen Orientierung zeigten jedoch auch, dass die Stärke des evozierten DA-Notch für die orthogonale Orientierung immer stärker ausfällt und damit auch einen natürlichen, modulatorischen Mechanismus darstellen könnte (Davis et al., 2002).

## 8.6 Fazit und Ausblick

Die heutige Neurowissenschaft hat ihre Wurzeln in der Untersuchung des Verhaltens von Neuronen unter Verwendung lokal aufgelegter oder implantierter Mikroelektroden. Eine zentrale Annahme bei der Untersuchung neuronaler Reizverarbeitung war bisher, dass die Aktivität sensorischer Neuronen unsere Wahrnehmung der Umwelt direkt widerspiegelt. Die Stärke einer sensorischen Eingabe moduliert dabei in direkter Weise die neuronale Antwortstärke. Bisherige Konzepte haben sich in dieser Hinsicht darauf beschränkt, die Topologie der am Antwortverhalten beteiligten Netzwerke mit dem Schwerpunkt auf anatomisch abgrenzbaren Zentren zu beschreiben. Seit jeher wurde jedoch auch beobachtet, dass Zeitpunkte, zu denen ein Neuron beispielsweise Aktionspotentiale generiert, von Versuch zu Versuch unterschiedlich ausfiel. Dies führte zu der anfänglichen Annahme, dass das exakte Timing von untergeordneter Relevanz ist. Um den durchschnittlichen Verlauf des Antwortverhaltens zu erhalten, wurden Signalverläufe aus mehreren Versuchen kombiniert oder gemittelt. Dies wurde zur Standardmethode für die Quantifizierung der neuronalen Aktivität. Die Differenzierung und das Mittel von Signalen verleitet jedoch dazu, das Gehirn als eine Reihe statischer Aktivitätsquellen zu betrachten. Als Hubel und Wiesel ihre Pionierarbeiten der Beschreibung des primären visuellen Kortex der Katze veröffentlichten, zeigten sie, dass darin befindliche Neuronen für Stimulationsattribut selektiv sind und diese Selektivität eine funktionelle Architektur aufweist (Hubel, 1959; Hubel & Wiesel, 1962). Diese Entdeckungen stimmen mit zuvor im somatosensorischen Kortex (Mountcastle, 1957) gemachten Beobachtungen überein, die den sensorischen Kortex in scharf abgestimmte neuronale Populationen unterteilte, die in vertikalen Säulen angeordnet sind (Ohki et al., 2005; Ohki et al., 2006). Mit der technischen Weiterentwicklung insbesondere optischer Aufnahmetechniken und der Anwendbarkeit mathematischer Theorien konnte erstmals die Dynamik dieser und weiterer Areale erfasst und eine große Anzahl Einzelaufnahmen systematisch analysiert werden. Auf dieser Ebene wurde offensichtlich, dass neuronale Systeme Messgrößen selten direkt darstellen. Dabei zeigte sich, dass verschiedene und miteinander interagierenden Elemente Entitäten bilden, die wesentlich verteilter sind als bisher angenommen und daher aufgrund ihrer gemeinsamen Dynamik definiert werden müssen. Tatsächlich weist neuronale Aktivität ein hohes Maß dynamischer Plastizität und modulatorischer Mechanismen auf, die einzelne Zellen, Populationen und ganze Areale betreffen können. Die anfänglich verworfene Variabilität der Aufnahmen erwies sich als System wechselnder Zuständen von Oszillationszyklen, die zunehmend als Projektionsmechanismus eines internen Kontext verstanden werden. Die Wahrnehmung von und Reaktion auf externe Reize im Nervensystem ist nicht nur von instantaner Informationsverarbeitung abhängig, sondern beruht auch auf Erfahrungen, Erwartungshaltungen und Aufmerksamkeitsphänomenen, die man als Zustände des informationsverarbeitenden Systems ansehen kann. Interne Zustände können daher bei

der Modulation neuronaler Aktivität als Reaktion auf Sinnesreize eine zentrale Rolle spielen. Bei der Messung neuronaler Antworten auf externe Stimuli konnte gezeigt werden, dass diese Antworten trotz unveränderter Stimulationsbedingungen sehr variabel ausfallen können. Man nimmt an, dass die Variabilität evozierter neuronaler Antworten in Zusammenhang mit vorangehender spontaner Aktivität steht und dass die Variabilität innerhalb der Spontanaktivität wiederum verschiedene Stadien der Wahrnehmung, Aufmerksamkeit und Informationsverarbeitung des Gehirns, so genannten „brain states“, widerspiegelt (Fries et al., 2001a, Ergenoglu et al., 2004, Womelsdorf et al., 2006, McMains et al., 2007, Sestieri et al., 2008, van Dijk et al., 2008). Nach dieser Ansicht hängt die Verarbeitung von visuellen Informationen mit Zuständen zusammen, bei denen Areale des visuellen Systems eine Erwartungshaltung bezüglich eines externen Inputs generieren oder sich in einem internen Verarbeitungsmodus befinden. Spontane Aktivität wurde seither mit Modulationsmechanismen in Zusammenhang gebracht, welche die hohe Variabilität der Stimulationsantwort erklären könnten (Arieli et al., 1996, Kisley et al., 1999). Als mögliche Modulatoren kommen z.B. interareale Mechanismen aus dem visuellen Thalamus, höheren kortikalen Arealen wie PMLS oder lokale neuronale Spontanaktivitäten in Frage. Es konnte gezeigt werden, dass spontane Aktivität in Area 18 des visuellen Systems der Katze auf Feedback-Mechanismen des übergeordneten PMLS zurückgeführt werden könnte. Spontane Aktivität wurde hierbei als Zunahme der Amplitude des VSDI-Signals definiert, das die Depolarisation des neuronalen Membranpotentials widerspiegelt. Die Depolarisation („Up-State“) trat hierbei primär als räumlich synchronisierte und gerichtete Wanderwelle auf, die von Phasen strukturierter Desynchronisation („Down-State“) unterbrochen wurde. Weil die sich über ganze Areale ausbreitenden Wanderwellen die Aktivität vieler Neuronen umfassen, sind sie für lokale Ableittechniken praktisch unsichtbar. Globale Wanderwellen wurden in verschiedenen räumlichen Maßstäben im Kortex beschrieben und erklären einen großen Teil der Varianz der Phasenmessungen von EEG, MEG und EKG (Alexander et al., 2015). Das Problem besteht nun darin, dass Wanderwellen nicht räumlich-zeitlich trennbar sind und im Gegensatz zu bisherigen lokalisierten Betrachtungsweisen stehen. Außerdem stellt sich die Frage, ob Wanderwellen einen Informationstransfer vermitteln oder einfach nur eine grundsätzlich synchronisierende Wirkung ausüben. Wanderwellen decken große Regionen des Gehirns ab und modulieren oft die bei laufender Stimulation aktiven neuronalen Populationen. Außerdem konnte beobachtet werden, dass während Phase spontaner Aktivität Aktivierungsmuster auftraten, die große Ähnlichkeit mit evozierten Antworten hatten. Insgesamt gibt es viele Belege dafür, dass die Wahrnehmung und die entsprechend neuronalen Reaktionen in sensorischen kortikalen Bereichen von Vorhersagen und Erwartungen beeinflusst werden. Während aufsteigende Feedforward-Verbindungen stimulationsbezogene Informationen übermitteln, bieten horizontale Langstrecken- und Feedback-Verbindungen innerhalb und zwischen verschiedenen kortikalen Bereichen eine anatomische Grundlage für die Übermittlung solcher

Effekte. Die Prinzipien für die Berechnung dieser kontextbezogenen Signale, die Integration mit sensorischen Informationen und die Darstellung in neuronalen Aktivitäten wurden in zwei unterschiedlichen, jedoch eng verwandten theoretischen Rahmenbedingungen formuliert: „Predictive coding“ und „Bayes'sche Inferenz“ (Aitchison, 2017), die zunehmend als Gesamtmodell einer Art „Bayesian Predictive Coding“ aufgefasst werden. Die Untersuchung der dieser fortlaufenden Dynamik stößt auf anhaltendes Interesse, da auf dieser Basis kognitiver Funktionen beim Menschen, wie etwa Vorstellungskraft, Lernprozessen oder Bewusstsein sein könnte. Der Einfluss der andauernden kortikalen Dynamik auf die Verarbeitung sensorischer Inputs deutet an, dass auch bewusste Wahrnehmung als nicht unabhängig vom Ausgangszustand des Systems betrachtet werden muss. Die gemessenen spontanen Aktivitätssignale werfen, auch wenn ihre funktionale Bedeutung sich weiterhin einer exakten Beschreibung entzieht, zumindest ein weiteres Licht auf diese neue Stufe der Komplexität Kognitiver Prozesse.

## 9. Literaturverzeichnis

- Adrian, E. D. (1928). *The basis of sensation*. Christophers; London, 22 Berners Steet, W. 1.
- Adrian, E. D., & Zottermann, Y. (1899). *The impulses produced by sensory nerve endings. Part I*. (1).
- Aitchison, L. (2017). *ScienceDirect With or without you : predictive coding and Bayesian inference in the brain*. 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.08.010>
- Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F. B., & Starke, K. (2017). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Elsevier Health Sciences.
- Albus, K. (1975). A quantitative study of the projection area of the central and the paracentral visual field in area 17 of the cat. *Experimental Brain Research*, 24(2), 159–179.
- Alexander, D. M., Trengove, C., & Leeuwen, C. Van. (2015). Donders is dead : cortical traveling waves and the limits of mental chronometry in cognitive neuroscience. *Cognitive Processing*, 16(4), 365–375. <https://doi.org/10.1007/s10339-015-0662-4>
- Andor. (2009). Making Sense of Sensitivity. *Andor Technical Article*.
- Arieli, A., Sterkin, A., Grinvald, A., & Aertsen, A. (1996). Dynamics of ongoing activity: Explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science*, 273(5283), 1868–1871. <https://doi.org/10.1126/science.273.5283.1868>
- Ascoli, G. A., Alonso-Nanclares, L., Anderson, S. A., Barrionuevo, G., Benavides-Piccione, R., Burkhalter, A., ... others. (2008). Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(7), 557.
- Bastos, M., Vezoli, J., Kennedy, H., Fries, P., Bastos, M., Vezoli, J., ... Oostenveld, R. (2015). *Visual Areas Exert Feedforward and Feedback Influences through Distinct Frequency Channels*. 390–401. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.018>
- Benevento, L. A., & Standage, G. P. (1982). Demonstration of lack of dorsal lateral geniculate nucleus input to extrastriate areas MT and visual 2 in the macaque monkey. *Brain Research*, 252(1), 161–166.
- Benitez, R., & Nenadic, Z. (2008). Robust unsupervised detection of action potentials with probabilistic models. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 55(4), 1344–1354. <https://doi.org/10.1109/TBME.2007.912433>
- Berger, H. (1929). Über das elektrenkephalogramm des menschen. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 87(1), 527–570.
- Blakemore, C., & Zumbroich, T. J. (1987). Stimulus Selectivity and Functional-Organization in the Lateral Suprasylvian Visual-Cortex of the Cat. *Journal of Physiology - London*, 389, 569–603. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1987.sp016673>



- Blasdel, G. G., & Salama, G. (1986). Voltage-sensitive dyes reveal a modular organization in monkey striate cortex. *Nature*, 321(6070), 579. <https://doi.org/10.1038/321579a0>
- Bokil, H. S., Andrews, P., Maniar, H., Pesaran, B., Kulkarni, J., Loader, C., & Mitra, P. P. (2009). *Chronux : a platform for analyzing neural signals*. 1, 2006. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-S1-S3>
- Bonhoeffer, T., & Grinvald, A. (1991). Iso-orientation domains in cat visual cortex are arranged in pinwheel-like patterns. *Nature*, 353(6343), 429–431. <https://doi.org/10.1038/353429a0>
- Brodmann, K. (1903). Beitrage zur histologische lokalisation der grosshernrinde. Zweite Mitteilung: der calcarinatypus. *J. Psychol. Neurol. Lpz*, 2, 79–159.
- Bullier, J., Kennedy, H., & Salinger, W. (1984a). Bifurcation of subcortical afferents to visual areas 17, 18, and 19 in the cat cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 228(3), 309–328. <https://doi.org/10.1002/cne.902280303>
- Bullier, J., Kennedy, H., & Salinger, W. (1984b). Branching and laminar origin of projections between visual cortical areas in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 228(3), 329–341.
- Burke, W., Dreher, B., & Wang, C. (1998). Selective block of conduction in Y optic nerve fibres: significance for the concept of parallel processing. *The European Journal of Neuroscience*, 10(1), 8.
- Butterworth, S. (1930). On the theory of filter amplifiers. *Wireless Engineer*, 7(6), 536–541.
- Butts, D. A., & Goldman, M. S. (2006). Tuning curves, neuronal variability, and sensory coding. *PLoS Biology*, 4(4), e92.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C. A., & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents-EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(6), 407–420. <https://doi.org/10.1038/nrn3241>
- Callaway, E. M. (2004). Feedforward, feedback and inhibitory connections in primate visual cortex. *Neural Networks*, 17(5–6), 625–632. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2004.04.004>
- Castelo-Branco, M., Neuenschwander, S., & Singer, W. (1998). Synchronization of visual responses between the cortex, lateral geniculate nucleus, and retina in the anesthetized cat. *The Structure of Large-Scale Synchronized Firing in Primate Retina*, 18(16), 6395–6410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-16-06395.1998>
- Celebrini, S., Thorpe, S., Trotter, Y., & Imbert, M. (1993). Dynamics of orientation coding in area V1 of the awake primate. *Visual Neuroscience*, 10(5), 811–825.
- Chemla, S., & Chavane, F. (2010). A biophysical cortical column model to study the multi-component origin of the VSDI signal. *NeuroImage*, 53(2), 420–438. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.026>
- Churchland, M. M., Byron, M. Y., Cunningham, J. P., Sugrue, L. P., Cohen, M. R., Corrado, G. S., ... others. (2010). Stimulus onset quenches neural variability: a widespread cortical phenomenon. *Nature Neuroscience*, 13(3), 369.
- Clarke, R. H. (1908). THE STRUCTURE AND FUNCTIONS OF THE CEREBELLUM EXAMINED BY A NEW METHOD. By SIR VICTOR HORSLEY, FRS, FRCS, AND. *Brain: A Journal of Neurology*, 45.

- Cohen, J. R., & Esposito, M. D. (2016). *The Segregation and Integration of Distinct Brain Networks and Their Relationship to Cognition*. 36(48), 12083–12094. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2965-15.2016>
- Cohen, M. R., & Kohn, A. (2011). Measuring and interpreting neuronal correlations. *Nature Neuroscience*, 14(7), 811.
- Connors, B. W., & Gutnick, M. J. (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends in Neurosciences*, 13(3), 99–104.
- Dai, J., Liu, X., Yi, Y., Zhang, H., Wang, J., Zhang, S., & Zheng, X. (2008). Experimental study on neuronal spike sorting methods. *2008 Second International Conference on Future Generation Communication and Networking*, 2, 230–233.
- David, O., Kilner, J. M., & Friston, K. J. (2006). Mechanisms of evoked and induced responses in MEG/EEG. *Neuroimage*, 31(4), 1580–1591.
- Davis, L., Burger, B., Banker, G. A., Steward, O., Sharon, D., & Grinvald, A. (2002). *Dynamics and Constancy in Cortical Spatiotemporal Patterns of Orientation Processing*. 295(January), 512–516.
- Dayan, P., & Abbott, L. F. (2001). *Theoretical Neuroscience* (Vol. 806). Cambridge, MA: MIT Press.
- DeWeese, M. R., & Zador, A. M. (2006). Non-Gaussian membrane potential dynamics imply sparse, synchronous activity in auditory cortex. *Journal of Neuroscience*, 26(47), 12206–12218.
- Dreher, B. (1986). Thalamocortical and corticocortical interconnections in the cat visual system: relation to the mechanisms of information processing. *Visual Neuroscience*, 290–314.
- Dreher, B., Leventhal, A. G., & Hale, P. T. (1980). Geniculate input to cat visual cortex: a comparison of area 19 with areas 17 and 18. *Journal of Neurophysiology*, 44(4), 804–826.
- Dreher, B., Michalski, A., Ho, R. H. T., Lee, C. W. F., & Burke, W. (1993). Processing of form and motion in area 21a of cat visual cortex. *Visual Neuroscience*, 10(1), 93–115.
- Dreher, B., Wang, C., Turlejski, K. J., Djavadian, R. L., & Burke, W. (1996). Areas PMLS and 21a of cat visual cortex: Two functionally distinct areas. *Cerebral Cortex*, 6(4), 585–599. <https://doi.org/10.1093/cercor/6.4.585>
- Einstein, G. (1996). Reciprocal projections of cat extrastriate cortex: I. Distribution and morphology of neurons projecting from posterior medial lateral suprasylvian sulcus to area 17. *Journal of Comparative Neurology*, 376(4), 518–529. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19961223\)376:4<518::AID-CNE2>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19961223)376:4<518::AID-CNE2>3.0.CO;2-4)
- Ergenoglu, T., Demiralp, T., Bayraktaroglu, Z., Ergen, M., Beydagi, H., & Uresin, Y. (2004). Alpha rhythm of the EEG modulates visual detection performance in humans. *Cognitive Brain Research*, 20(3), 376–383.
- Erhardt, W., & Kölle, P. (2004). *Anästhesie und Analgesie beim Klein-und Heimtier sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen*. Schattauer Verlag.
- Felleman, D. J., & Van Essen, D. C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cerebral Cortex*, 1(1), 1–47. <https://doi.org/10.1093/cercor/1.1.1>

- Ferezou, I., & Deneux, T. (2019). *Review : How do spontaneous and sensory-evoked activities interact ?* 4(3). <https://doi.org/10.1117/1.NPh.4.3.031221>
- Ferster, D., & Miller, K. D. (2000). Neural mechanisms of orientation selectivity in the visual cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 441–471.
- Fiala, J. C., & Harris, K. M. (1999). Dendrite structure. *Dendrites*, 2, 1–11.
- Fries, P. (2005). *A mechanism for cognitive dynamics : neuronal communication through neuronal coherence*. 9(10). <https://doi.org/10.1016/j.tics.2005.08.011>
- Fries, P. (2016). *Rhythms For Cognition: Communication Through Coherence* Pascal Fries1,2,\* 1Ernst. 88(1), 220–235. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.034>.Rhythms
- Fries, P., Neuenschwander, S., Engel, A. K., Goebel, R., & Singer, W. (2001). Rapid feature selective neuronal synchronization through correlated latency shifting. *Nature Neuroscience*, 4(2), 194–200. <https://doi.org/10.1038/84032>
- Friston, K. (2005). A theory of cortical responses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1456), 815–836.
- G. Buzsaki. (2006). *Rhythms of the Brain*. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195301069.001.0001>
- Galuske, R. A. W., Munk, M. H. J., & Singer, W. (2019). Relation between gamma oscillations and neuronal plasticity in the visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(46), 23317–23325.
- Galuske, R. A. W., Schmidt, K. E., Goebel, R., Lomber, S. G., & Payne, B. R. (2002). The role of feedback in shaping neural representations in cat visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(26), 17083–17088. <https://doi.org/10.1073/pnas.242399199>
- Gerstein, G. L., & Kiang, N. Y.-S. (1960). An approach to the quantitative analysis of electrophysiological data from single neurons. *Biophysical Journal*, 1(1), 15.
- Gilbert, C. D., & Kelly, J. P. (1975). The projections of cells in different layers of the cat's visual cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 163(1), 81–105. <https://doi.org/10.1002/cne.901630106>
- Gilbert, Charles D. (1977). Laminar differences in receptive field properties of cells in cat primary visual cortex. *The Journal of Physiology*, 268(2), 391–421.
- Gilbert, Sigman, 2007 Gilbert CD, Sigman M, “Brain states: top-down influences in sensory processing.”, *Neuron* 54:677-696., 2007
- Gilbert, Charles D., & Li, W. (2013). Top-down influences on visual processing. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(5), 350–363. <https://doi.org/10.1038/nrn3476>
- Gold, C., Girardin, C. C., Martin, K. A. C., & Koch, C. (2009). High-Amplitude Positive Spikes Recorded Extracellularly in Cat Visual Cortex. *Journal of Neurophysiology*, 102(6), 3340–3351. <https://doi.org/10.1152/jn.91365.2008>

- Gollnick, C. A., Millard, D. C., Ortiz, A. D., Bellamkonda, R. V, Stanley, X. G. B., & Stanley, G. B. (2016). Response reliability observed with voltage-sensitive dye imaging of cortical layer 2/3: the probability of activation hypothesis. *Journal of Neurophysiology*, 115(5), 2456–2469.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00547.2015>
- Goodale, M. A., & Milner, A. D. (1992). Separate visual pathways for perception and action. *Trends in Neurosciences*, 15(1), 20–25.
- Grinvald, A., & Hildesheim, R. (2004). VSDI: a new era in functional imaging of cortical dynamics. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(11), 874–885. <https://doi.org/10.1038/nrn1536>
- Grinvald, A., Lieke, E., Frostig, R. D., Gilbert, C. D., & Wiesel, T. N. (1986). Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature*, 324(6095), 361–364.  
<https://doi.org/10.1038/324361a0>
- Grinvald, A., Shoham, D., Shmuel, A., Glaser, D., Vanzetta, I., Shtoyerman, E., ... Arieli, A. (1999). In-vivo optical imaging of cortical architecture and dynamics. In *Modern techniques in neuroscience research* (pp. 893–969). Springer.
- Harris, K. D., & Thiele, A. (2011). Cortical state and attention. *Nature reviews neuroscience*, 12(9), 509–523.
- Hebb, D. O. (2005). *The organization of behavior: A neuropsychological theory*. Psychology Press.
- Heights, Y., Bonhoeffer, T., Bonhoeffer, T., Grinvald, A., Grinvald, A., Bonhoeffer, T., ... Grinvald, A. (1993). The layout of iso-orientation domains in area 18 of cat visual cortex: optical imaging reveals a pinwheel-like organization. *Journal of Neuroscience*, 13(10), 4157–4180. Retrieved from  
<http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=8410182&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/86B1ABE8-8A75-4A7A-B08B-2EAF942B5CAC>
- Hill, D. K., & Keynes, R. D. (1949). Opacity changes in stimulated nerve. *The Journal of Physiology*, 108(3), 278–281.
- Holcman, D., & Tsodyks, M. (2006). *The Emergence of Up and Down States in Cortical Networks*. 2(3).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0020023>
- Hollaänder, H., & Vanegas, H. (1977). The projection from the lateral geniculate nucleus onto the visual cortex in the cat. A quantitative study with horseradish-peroxidase. *Journal of Comparative Neurology*, 173(3), 519–536.
- Hromádka, T. (2008). Representation of Sounds in Auditory Cortex of Awake Rats. *Available from Nature Precedings*.
- Hubel, H. D. (1959). Single unit activity in striate cortex of unrestrained cats. *The Journal of Physiology*, 147(2), 226–238.
- Hubel, H. D., & Wiesel, T. N. (1962). Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *The Journal of Physiology*, 160(1), 106–154.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1962.sp006837>

- Hubel, H. D., & Wiesel, T. N. (1968). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *The Journal of Physiology*, 195(1), 215–243.
- Hubel, H. D., & Wiesel, T. N. (1969). *Visual area of the lateral suprasylvian gyrus (Clare-Bishop area) of the cat*. 251–260.
- Hubel, H. D., & Wiesel, T. N. (1974). Sequence regularity and geometry of orientation columns in the monkey striate cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 158(3), 267–293.
- Hubel, H. D., & Wiesel, T. N. (1977). Ferrier lecture-Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 198(1130), 1–59.
- Isaacson, J. S., & Scanziani, M. (2012). *How Inhibition Shapes Cortical Activity*. 72(2), 231–243.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.027>.How
- Jähner, N. G. (2013). *Topographie kortikaler Rückprojektionen im visuellen System der Katze*. Technische Universität.
- Josic, K., Matias, M., Romo, R., & Rubin, J. (2009). *Coherent behavior in neuronal networks*. Springer.
- Kalatsky, V. A., & Stryker, M. P. (2003). New paradigm for optical imaging: Temporally encoded maps of intrinsic signal. *Neuron*, 38(4), 529–545. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00286-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00286-1)
- Kalil, R. E., Tong, L., & Spear, P. D. (1991). Thalamic projections to the lateral suprasylvian visual area in cats with neonatal or adult visual cortex damage. *Journal of Comparative Neurology*, 314(3), 512–525.  
<https://doi.org/10.1002/cne.903140308>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., Hudspeth, A. J., & others. (2000). *Principles of neural science* (Vol. 4). McGraw-hill New York.
- Katz, L. C., & Crowley, J. C. (2002). Development of cortical circuits: Lessons from ocular dominance columns. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(1), 34–42. <https://doi.org/10.1038/nrn703>
- Katzner, S., Busse, L., & Carandini, M. (2011). *GABA A Inhibition Controls Response Gain in Visual Cortex*. 31(16), 5931–5941. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5753-10.2011>
- Kenet, T., Bibitchkov, D., Tsodyks, M., Grinvald, A., & Arieli, A. (2003). Spontaneously emerging cortical representations of visual attributes. *Nature*, 425(6961), 954–956.  
<https://doi.org/10.1038/nature02078>
- Kepler, J. (1604). *Ad Vitellionem Paralipomena*. 1571–1630.
- Kisley, M. a, & Gerstein, G. L. (1999). Trial-to-trial variability and state-dependent modulation of auditory-evoked responses in cortex. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(23), 10451–10460.
- Knierim, J. J., & Van Essen, D. C. (1992). Neuronal responses to static texture patterns in area V1 of the alert macaque monkey. *Journal of Neurophysiology*, 67(4), 961–980.

- Lebeuf, R., Férézou, I., Rossier, J., Arseniyadis, S., & Cossy, J. (2009). Straightforward synthesis of the near-infrared fluorescent voltage-sensitive dye RH1691 and analogues thereof. *Organic Letters*, 11(21), 4822–4825.
- Lee, T. S., & Mumford, D. (2003). Hierarchical Bayesian inference in the visual cortex. *Journal of the Optical Society of America*, 20(7), 1434–1448. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.20.001434>
- Leung, L. S. (1990). Field Potentials in the Central Nervous System. *Neurophysiological Techniques: Applications to Neural Systems*, 277–312. <https://doi.org/10.1385/0-89603-185-3>
- Levick, W. R. (1975). Form and function of cat retinal ganglion cells. *Nature*, 254(5502), 659–662.
- Lieke, E., Frostig, R. D., & Hildesheim, R. (1994). *Cortical Point-Spread Function and Long-Range Lateral Interactions Revealed by Real-Time Optical Imaging of Macaque Monkey Primary Visual Cortex*. 14(May).
- Lindquist, M. A., Loh, J. M., Atlas, L. Y., & Wager, T. D. (2009). Modeling the hemodynamic response function in fMRI: efficiency, bias and mis-modeling. *Neuroimage*, 45(1), S187–S198. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.10.065>. Modeling
- Logothetis, N. K., Murayama, Y., Augath, M., Steffen, T., Werner, J., & Oeltermann, A. (2009). How not to study spontaneous activity. *NeuroImage*, 45(4), 1080–1089. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.01.010>
- Logothetis, N. K., Pauls, J., Augath, M., Trinath, T., & Oeltermann, A. (2001). Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature*, 412(6843), 150–157. <https://doi.org/10.1038/35084005>
- Lomber, S. G. (2001). Behavioral cartography of visual functions in cat parietal cortex: areal and laminar dissociations. In *Progress in brain research* (Vol. 134, pp. 265–284). Elsevier.
- Lomber, S. G., Payne, B. R., Cornwell, P., & Long, K. D. (1996). Perceptual and cognitive visual functions of parietal and temporal cortices in the cat. *Cerebral Cortex*, 6(5), 673–695.
- Lowenstein, P. R., & Somogyi, P. (1991). Synaptic organization of cortico-cortical connections from the primary visual cortex to the posteromedial lateral suprasylvian visual area in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 310(2), 253–266.
- Lyskov, E., Ponomarev, V., Sandström, M., Mild, K. H., & Medvedev, S. (1998). Steady-state visual evoked potentials to computer monitor flicker. *International Journal of Psychophysiology*, 28(3), 285–290.
- Makin, S. (2018). “Traveling” Brain Waves May Be Critical for Cognition. Nature Publishing Group.
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., & Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(10), 793.
- Maunsell, J. H., & van Essen, D. C. (1983). The connections of the middle temporal visual area (MT) and their relationship to a cortical hierarchy in the macaque monkey. *Journal of Neuroscience*, 3(12), 2563–2586.

- Maunsell, John H. & Gibson, J. R. (1992). Visual response latencies in striate cortex of the macaque monkey. *Journal of Neurophysiology*, 68(4), 1332–1344.
- Mayhew, J. E. W., Askew, S., Zheng, Y., Porrill, J., Westby, G. W. M., Redgrave, P., ... Harper, R. M. (1996). Cerebral vasomotion: a 0.1-Hz oscillation in reflected light imaging of neural activity. *Neuroimage*, 4(3), 183–193.
- McMains, S. A., Fehd, H. M., Emmanouil, T.-A., & Kastner, S. (2007). Mechanisms of feature- and space-based attention: response modulation and baseline increases. *Journal of Neurophysiology*, 98(4), 2110–2121.
- Michalareas, G., Vezoli, J., Van Pelt, S., Schoffelen, J. M., Kennedy, H., & Fries, P. (2016). Alpha-beta and gamma rhythms subserve feedback and feedforward influences among human visual cortical areas. *Neuron*, 89(2), 384–397.
- Mizobe, K., Itoi, M., Kaihara, T., & Toyama, K. (1988). Neuronal responsiveness in area 21a of the cat. *Brain Research*, 438(1–2), 307–310.
- Mohajerani, M. H., McVea, D. A., Fingas, M., & Murphy, T. H. (2010). Mirrored bilateral slow-wave cortical activity within local circuits revealed by fast bihemispheric voltage-sensitive dye imaging in anesthetized and awake mice. *Journal of Neuroscience*, 30(10), 3745–3751.
- Mountcastle, V. B. (1957). Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *Journal of Neurophysiology*, 20(4), 408–434.
- Mountcastle, V. B. (1997). *The columnar organization of the neocortex*. 701–722.
- Muller, L., Reynaud, A., Destexhe, A., Chemla, S., Muller, L., Reynaud, A., ... Chavane, F. (2017). Improving voltage-sensitive dye imaging: with a little help from computational approaches. *Neurophotonic*, 4(3), 031215. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.4.3.031215>
- Mumford, D. (1992). On the computational architecture of the neocortex. *Biological Cybernetics*, 66(3), 241–251.
- Nenadic, Z., & Burdick, J. W. (2005). Spike detection using the continuous wavelet transform. *Ieee Tbm*, 52(1), 74–87. <https://doi.org/10.1109/TBME.2004.839800>
- Niessing, J., Ebisch, B., Schmidt, K. E., Niessing, M., Singer, W., & Galuske, R. A. W. (2005). *Hemodynamic Signals Correlate Tightly with Synchronized Gamma Oscillations*. (August), 948–951.
- Niessing, M., Schmidt, K., Singer, W., & Galuske, R. A. W. (2003). Precise placement of multiple electrodes into functionally predefined cortical locations. *Journal of Neuroscience Methods*, 126(2), 195–207. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(03\)00091-8](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(03)00091-8)
- Ohki, K., Chung, S., Chang, Y. H., Kara, P., & Reid, R. C. (2005). Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex. *Nature*, 433(7026), 597.
- Ohki, K., Chung, S., Kara, P., Hübener, M., Bonhoeffer, T., & Reid, R. C. (2006). Highly ordered arrangement of single neurons in orientation pinwheels. *Nature*, 442(7105), 925.

- Omer, D. B., Fekete, T., Ulchin, Y., Hildesheim, R., & Grinvald, A. (2018). Dynamic Patterns of Spontaneous Ongoing Activity in the Visual Cortex of Anesthetized and Awake Monkeys are Different. *Cerebral Cortex*, 29(3), 1291–1304. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy099>
- Otsuka, R., Hassler, R., & Yosuka Otsuka, R. H. (1962). Über Aufbau und Gliederung der corticalen Sehsphäre bei der Katze. *Archiv Für Psychiatrie Und Nervenkrankheiten*, 234(2), 212–234.
- Palmer, L. A., Rosenquist, A. C., & Tusa, R. J. (1978). The Retinotopic Organization of Lateral Suprasylvian Visual Areas in the Cat. *Journal of Comparative Neurology*, 177(2), 237–256. <https://doi.org/10.1002/cne.901770205>
- Pasternak, T., Tompkins, J., & Olson, C. R. (1995). The role of striate cortex in visual function of the cat. *Journal of Neuroscience*, 15(3), 1940–1950.
- Payne, B. R., & Berman, N. E. (1983). Functional organization of neurons in cat striate cortex: variations in preferred orientation and orientation selectivity with receptive-field type, ocular dominance, and location in visual-field map. *Journal of Neurophysiology*, 49(4), 1051–1072.
- Payne, B. R., Berman, N. E., & Murphy, E. H. (1981). Organization of direction preferences in cat visual cortex. *Brain Research*, 211(2), 445–450.
- Payne, B. R., Connors, C., & Cornwell, P. (1991). Survival and death of neurons in cortical area PMLS after removal of areas 17, 18, and 19 from cats and kittens. *Cerebral Cortex*, 1(6), 469–491.
- Payne, B. R., & Peters, A. (2001). *The cat primary visual cortex*. Academic Press.
- Peichl, L. (1992). Morphological types of ganglion cells in the dog and wolf retina. *Journal of Comparative Neurology*, 324(4), 590–602. <https://doi.org/10.1002/cne.903240411>
- Peichl, L., & Wässle, H. (1979). SIZE, SCATTER AND COVERAGE OF GANGLION CELL RECEPTIVE FIELD CENTRES IN THE CAT RETINA. *The Journal of Physiology*, 117–141. Retrieved from <http://jp.physoc.org/content/291/1/117.short>
- Peters, A., & Yilmaz, E. (1993). Neuronal organization in area 17 of cat visual cortex. *Cerebral Cortex*, 3(1), 49–68.
- Petersen, C. C. H., Grinvald, A., & Sakmann, B. (2003). Spatiotemporal dynamics of sensory responses in layer 2/3 of rat barrel cortex measured in vivo by voltage-sensitive dye imaging combined with whole-cell voltage recordings and neuron reconstructions. *Journal of Neuroscience*, 23(4), 1298–1309.
- Photonfocus. (n.d.). MV1-D1312-160-CL MAN041 Rev2.5. *Photonfocus Technical Article*.
- Polyak, S. L. (1941). *The retina*.
- Purpura, K. P., & Bokil, H. (2008). Neural Signal Processing: Tutorial 1. *Neural Signal Processing*.
- Rabiner, L. R., Gold, B., & Yuen, C. K. (2007). *Theory and application of digital signal processing*. Prentice-Hall.



- Rao, R. P. N., & Ballard, D. H. (1999). Predictive coding in the visual cortex: a functional interpretation of some extra-classical receptive-field effects. *Nature Neuroscience*, 2(1), 79.
- Ratzlaff, E. H., & Grinvald, A. (1991). A tandem-lens epifluorescence macroscope: Hundred-fold brightness advantage for wide-field imaging. *Journal of Neuroscience Methods*, 36(2–3), 127–137.  
[https://doi.org/10.1016/0165-0270\(91\)90038-2](https://doi.org/10.1016/0165-0270(91)90038-2)
- Reinoso-Suárez, F. (1961). *Topographischer Hirnatlas der Katze für experimental-physiologische Untersuchungen*. Retrieved from <https://books.google.de/books?id=ISUQHAAACAAJ>
- Reynaud, A., Takerkart, S., Masson, G. S., & Chavane, F. (2011). Linear model decomposition for voltage-sensitive dye imaging signals: Application in awake behaving monkey. *NeuroImage*, 54(2), 1196–1210.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.08.041>
- Rieke, F., & Warland, D. (1999). *Spikes: exploring the neural code*. MIT press.
- Rockland, K. S., & Pandya, D. N. (1979). Laminar origins and terminations of cortical connections of the occipital lobe in the rhesus monkey. *Brain Research*, 179(1), 3–20.
- Roger, A. S., & Schwartz, E. L. (1990a). Cat and monkey cortical columnar patterns modeled by bandpass-filtered 2D white noise. *Biological Cybernetics*, 62(5), 381–391.
- Roger, A. S., & Schwartz, E. L. (1990b). Design considerations for a space-variant visual sensor with complex-logarithmic geometry. [1990] *Proceedings. 10th International Conference on Pattern Recognition*, 2, 278–285.
- Rose, D., & Blakemore, C. (1974). Effects of bicuculline on functions of inhibition in visual cortex. *Nature*, 249(5455), 375.
- Rosenquist, A. C. (1985). Connections of visual cortical areas in the cats. *Cerebral Cortex*, 3, 81–117.
- Rudolph, M., Pospischil, M., Timofeev, I., & Destexhe, A. (2007). Inhibition determines membrane potential dynamics and controls action potential generation in awake and sleeping cat cortex. *Journal of Neuroscience*, 27(20), 5280–5290.
- Salin, P.-A., & Bullier, J. (1995). Corticocortical connections in the visual system: structure and function. *Physiological Reviews*, 75(1), 107–155.
- Sandies, F., & Hoffmann, J. (1969). Cyto- and myeloarchitecture of the visual cortex of the cat and the surrounding integration cortices. *J. Hirnforsch.*, 11(1), 79–104.
- Sato, T. K., Nauhaus, I., & Carandini, M. (2012). *Review Traveling Waves in Visual Cortex*.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.06.029>
- Scheiner, C. (1619). *Oculus, hoc est: Fundamentum opticum*. Flesher.
- Schmidt, Kerstin E., Galuske, R. A. W., & Singer, W. (1999). Matching the modules: Cortical maps and long-range intrinsic connections in visual cortex during development. *Journal of Neurobiology*, 41(1), 10–17.  
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4695\(199910\)41:1<10::AID-NEU3>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4695(199910)41:1<10::AID-NEU3>3.0.CO;2-L)

- Schmidt, Kerstin Erika, Lomber, S. G., Payne, B. R., & Galuske, R. A. W. (2011). Pattern motion representation in primary visual cortex is mediated by transcortical feedback. *Neuroimage*, 54(1), 474–484.
- Schölvinck, M. L., Friston, K. J., & Rees, G. (2012). The influence of spontaneous activity on stimulus processing in primary visual cortex. *NeuroImage*, 59(3), 2700–2708. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.10.066>
- Schölvinck, M. L., Saleem, A. B., Benucci, X. A., Harris, X. K. D., & Carandini, X. M. (2015). *Cortical State Determines Global Variability and Correlations in Visual Cortex*. 35(1), 170–178. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4994-13.2015>
- Sestieri, C., Sylvester, C. M., Jack, A. I., d'Avossa, G., Shulman, G. L., & Corbetta, M. (2008). Independence of anticipatory signals for spatial attention from number of nontarget stimuli in the visual field. *Journal of Neurophysiology*, 100(2), 829–838.
- Sharon, D., Jancke, D., Chavane, F., Na'aman, S., & Grinvald, A. (2007). Cortical response field dynamics in cat visual cortex. *Cerebral Cortex*, 17(12), 2866–2877. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm019>
- Shatz, C. (1977). A comparison of visual pathways in Boston and Midwestern Siamese cats. *Journal of Comparative Neurology*, 171(2), 205–228. <https://doi.org/10.1002/cne.901710206>
- Shepherd, G. M. G. (2003). *The synaptic organization of the brain*. Oxford university press.
- Shepherd, G. M. G. (2006). *Visualizing large-scale patterns of activity in the brain: optical and electrical signals*.
- Shimaoka, D., Song, C., & Knöpfel, T. (2017). *State-Dependent Modulation of Slow Wave Motifs towards Awakening*. (April). <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00108>
- Shmuel, A., & Grinvald, A. (1996). Functional organization for direction of motion and its relationship to orientation maps in cat area 18. *Journal of Neuroscience*, 16(21), 6945–6964. Retrieved from file:///E:/flux\_archive/flux\_paper/Shmuel, Grinvald\_1996\_Functional organization for direction of motion and its relationship to orientation maps in cat area 18.pdf
- Shoham, D., & Bonhoeffer, T. (1997). *Spatio-temporal frequency domains and their relation to cytochrome oxidase staining in cat visual cortex*.
- Shoham, D., Glaser, D. E., Arieli, A., Kenet, T., Wijnbergen, C., Toledo, Y., ... Grinvald, A. (1999). *Imaging Cortical Dynamics at High Neurotechnique Spatial and Temporal Resolution with Novel Blue Voltage-Sensitive Dyes*. 24, 791–802.
- Singer, & Mitzdorf. (1978). Prominent excitatory pathways in the cat visual cortex (A 17 and A 18): a current source density analysis of electrically evoked potentials. *Experimental Brain Research*, 33(3–4), 371–394.
- Singer, W., & Rager, G. (1998). The response of cat visual cortex to flicker stimuli of variable frequency. *European Journal of Neuroscience*, 10(5), 1856–1877. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00197.x>

- Spear, P. D. (1985). Neural mechanisms of compensation following neonatal cortex damage. *Synaptic Plasticity and Remodeling*, 111–167.
- Spear, P. D. (1991). Function of extrastriate visual cortex in non-primate species. *The Neural Basis of Visual Function*, 4, 339–370.
- Sprague, J. M. M., Levy, J., DiBerardino, A., & Berlucchi, G. (1977). Visual cortical areas mediating form discrimination in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 172(3), 441–488.
- Stone, J., & Dreher, B. (1973). Projection of X-and Y-cells of the cat's lateral geniculate nucleus to areas 17 and 18 of visual cortex. *Journal of Neurophysiology*, 36(3), 551–567.
- Sukiban, J., Voges, N., Dembek, T. A., Pauli, R., Visser-Vandewalle, V., Denker, M., ... Grün, S. (2019). Evaluation of Spike Sorting Algorithms: Application to Human Subthalamic Nucleus Recordings and Simulations. *Neuroscience*, 414, 168–185.
- Swindale, N. V. (2000). How many maps are there in visual cortex? *Cereb. Cortex*, 10(7), 633–643. <https://doi.org/10.1093/cercor/10.7.633>
- Swindale, N. V., Matsubara, J. A., & Cynader, M. S. (1987). Surface organization of orientation and direction selectivity in cat area 18. *J Neurosci*, 7(5), 1414–1427. <https://doi.org/10.1534/genetics.116.197285>
- Symonds, L. L., & Rosenquist, A. C. (1984). Laminar origins of visual corticocortical connections in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 229(1), 39–47. <https://doi.org/10.1002/cne.902290104>
- Takagaki, K., Lippert, M. T., Dann, B., Wanger, T., & Ohl, F. W. (2008). Normalization of voltage-sensitive dye signal with functional activity measures. *PloS One*, 3(12), e4041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004041>
- Talbot, S. A., & Marshall, W. H. (1941). Physiological studies on neural mechanisms of visual localization and discrimination. *American Journal of Ophthalmology*, 24(11), 1255–1264.
- Trauth, M. H., Gebbers, R., Marwan, N., & Sillmann, E. (2007). *MATLAB recipes for earth sciences* (Vol. 34). Springer.
- Tsodyks, M., Kenet, T., & Arieli, A. (1999). Linking Spontaneous Activity of Single Cortical Neurons and The Underlying Functional Architecture. *Science*, 286(1999), 1943. <https://doi.org/10.1126/science.286.5446.1943>
- Tsodyks, M., Kenet, T., Grinvald, A., & Arieli, A. (1999). *Linking Spontaneous Activity of Single Cortical Neurons and the Underlying Functional Architecture*. 286(December), 1943–1946.
- Tsumoto, T., Eckart, W., & Creutzfeldt, O. D. (1979). Modification of orientation sensitivity of cat visual cortex neurons by removal of GABA-mediated inhibition. *Experimental Brain Research*, 34(2), 351–363.
- Tusa, R. J., Palmer, L. A., & Rosenquist, A. C. (1978). *The Retinotopic Organization of Area 17 Striate Cortex in the Cat*. 17.
- Tusa, R. J., Rosenquist, A. C., & Palmer, L. A. (1979a). Retinotopic organization of area 20 and 21 in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 185, 657–678.

- Tusa, R. J., Rosenquist, A. C., & Palmer, L. A. (1979b). Retinotopic organization of areas 18 and 19 in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 185(4), 657–678. <https://doi.org/10.1002/cne.901850405>
- Ungerleider, L. G., Mishkin, M., Ingle, D. J., Goodale, M. A., & Mansfield, R. J. W. (1982). *Analysis of visual behavior*.
- Ungerleider, S. K., & Leslie, G. (2000). Mechanisms of visual attention in the human cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 315–341.
- van Dijk, H., Schoffelen, J.-M. J., Oostenveld, R., Jensen, O., Dijk, H. Van, Schoffelen, J.-M. J., ... Jensen, O. (2008). Prestimulus Oscillatory Activity in the Alpha Band Predicts Visual Discrimination Ability. *Journal of Neuroscience*, 28(8), 1816–1823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1853-07.2008>
- van Dijk, H., Schoffelen, J.-M., Oostenveld, R., & Jensen, O. (2008). Prestimulus Oscillatory Activity in the Alpha Band Predicts Visual Discrimination Ability. *Journal of Neuroscience*, 28(8), 1816–1823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1853-07.2008>
- Vidyasagar, T. R., Kulikowski, J. J., Lipnicki, D. M., & Dreher, B. (2002). Convergence of parvocellular and magnocellular information channels in the primary visual cortex of the macaque. *European Journal of Neuroscience*, 16(5), 945–956.
- Vidyasagar, T. R., Pei, X. W., & Volgushev, M. (1996). Multiple mechanisms underlying the orientation selectivity of visual cortical neurones. *Trends in Neurosciences*, 19(7), 272–277.
- Villeneuve, M. Y., & Casanova, C. (2003). On the use of isoflurane versus halothane in the study of visual response properties of single cells in the primary visual cortex. *Journal of Neuroscience Methods*, 129(1), 19–31. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(03\)00198-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(03)00198-5)
- Vogels, R., & Orban, G. A. (1991). Quantitative study of striate single unit responses in monkeys performing an orientation discrimination task. *Experimental Brain Research*, 84(1), 1–11.
- Vögler, S. (2014). *Raumzeitliche Dynamik der Aktivität neuronaler Populationen im visuellen Kortex der Katze*. TU Prints.
- Wang, C. (2000). Modulatory Influence of Feedback Projections from Area 21a on Neuronal Activities in Striate Cortex of the Cat. *Cerebral Cortex*, 10(12), 1217–1232. <https://doi.org/10.1093/cercor/10.12.1217>
- Wang, C., Waleszczyk, W. J., Burke, W., & Dreher, B. (2006). *Modulatory Influence of Feedback Projections from Area 21a on Neuronal Activities in Striate Cortex of the Cat*. 1217–1232.
- Wang, Y., Diao, Y. C., Wang, L. L. L. H., Li, B., Wang, L. L. L. H., Diao, Y. C., ... Wang, Yi and Wang, Lei and Li, Bing and Wang, Lian-hong and Diao, Y. (1995). How is direction selectivity organized in the extrastriate visual area PMLS of the cat. *Neuroreport*, 6(15), 1969–1974. <https://doi.org/10.1097/00001756-199510010-00005>
- Watts, J., & Thomson, A. M. (2005). *Excitatory and inhibitory connections show selectivity in the neocortex*. 1, 89–97. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.076984>

- Williams, P. E., Mechler, F., Gordon, J., Shapley, R., & Hawken, M. J. (2004). *Entrainment to Video Displays in Primary Visual Cortex of Macaque and Humans*. 24(38), 8278–8288.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2716-04.2004>
- Wilson, C. (2010). *Up and down states*. 3(6), 1–11.
- Womelsdorf, T., Fries, P., Mitra, P. P., & Desimone, R. (2006). Gamma-band synchronization in visual cortex predicts speed of change detection. *Nature*, 439(7077), 733.
- Woolrich, M. W., Behrens, T. E. J., & Smith, S. M. (2004). *Constrained linear basis sets for HRF modelling using Variational Bayes*. 21, 1748–1761. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2003.12.024>
- Young, M. P. (1992). Objective analysis of the topological organization of the primate cortical visual system. *Nature*, 358(6382), 152.
- Zumbroich, J., & Ox, O. (1987). *Spatial and Temporal Selectivity in the Suprasylvian Visual Cortex of the Cat*. 7(February).
- Zumbroich, T. J., & Blakemore, C. (1986). Differences of visual field representation in the medial and lateral banks of the suprasylvian cortex (PMLS/PLLS) of the cat. *Methods*, 77–93.

## 10. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die mich in den vergangenen Jahren bei der Anfertigung der vorliegenden Dissertation unterstützt und begleitet haben. Zunächst möchte ich mich natürlich bei meiner Familie bedanken, die mich in der gesamten Zeit unterstützt und gerade gegen Ende mit Fresspaketen, Tee und jeder Menge aufmunternden Worten versorgt hat, wenn das Chaos mal wieder am Aufholen war. Bedanken möchte ich mich auch bei allen ehemaligen und neuen Mitgliedern der Arbeitsgruppe für die vielen gemeinsamen Diskussionen über unsere Arbeiten, Vorschlägen für die Datenanalyse, bei der Durchführung der Experimente, für die organisatorische Unterstützung und für die gute Laune in den Kaffeepausen. Herrn PD. Dr. med. Matthias Munk möchte ich für die Übernahme des Koreferats und seine tolle und immer hilfsbereite Diskussionsbereitschaft bedanken. Und ja, irgendwie kriegen wir das mit dem Paper schon noch hin ☺. Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ralf Galuske für die Bereitstellung dieses sehr interessanten Themas (das sich irgendwie aus der andauernden Frage entwickelt hat, ob ich schon wüsste wie das Hirn funktioniert...), die Möglichkeit zur Durchführung der Promotion in seiner Arbeitsgruppe und die Hilfe bei der Planung und Durchführung der Experimente, sowie die wissenschaftliche Freiheit und Zeit bei der Gestaltung dieser Arbeit. Vielen Dank für die Geduld, wenn ich mal wieder „etwas anders“ machen wollte, und die dadurch ermöglichten, faszinierenden Einblicke in die Welt der Hirnforschung.

## 11. Lebenslauf

Name, Vorname: Hofmann, Daniel Johannes  
Geburtsdatum: 05.05.1987  
Geburtsort: Alsfeld, Hessen

### Schulausbildung

14.06.2006 - 30.06.2006 Abitur in den Prüfungsfächern Physik, Mathematik, Deutsch, Geschichte, Biologie.  
01.08.1997 - 30.06.2006 Albert-Schweitzer-Gymnasiums Alsfeld. Leistungskurse Physik und Mathematik.  
01.08.1993 - 31.07.1997 Besuch der Grundschule Feldatal (Groß-Felda).

### Universitätsausbildung

01.10.2011 - 31.01.2014 Studium an der an der TU Darmstadt im Fachbereich Biologie. Schwerpunkt Neurobiologie, Zellbiophysik, Strahlenbiologie, Mikrobiologie. Masterthesis in der Systemischen Neurophysiologie, Thema „Interareale Interaktionen des primären visuellen Kortex“.  
31.08.2011 Abschluss des Bachelorstudiums Biologie. Interdisziplinäre Arbeit im I. Physikalischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen, Thema „Untersuchung der Funktionalität kovalent immobilisierter Enzyme auf Halbleiteroberflächen durch optische Absorptionsmessungen“.  
01.10.2008 - 31.08.2011 Justus – Liebig - Universität Gießen. Studiengang B.Sc. Biologie mit interdisziplinärem Schwerpunkt Experimentalphysik für Physiker und Materialwissenschaftler. Biologische Schwerpunktfächer Biochemie, Genetik.  
01.10.2007 - 30.09.2008 Studienbeginn Philipps-Universität Marburg. Studiengang B.Sc. Physik mit interdisziplinärem Schwerpunkt Biologie

### Beruflicher Hintergrund

01.02.2014 - 28.02.2019 Wissenschaftlicher Mitarbeiter / Promotionsstelle an der TU Darmstadt, Bereich Systemische Neurophysiologie.  
01.03.2013 - 15.04.2013 Studentische Hilfskraft Fachbereich Biologie, TU Darmstadt.  
01.10.2008 - 31.08.2011 Forschungspraktika und studentische Hilfskraft im I. Physikalischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen, Themenbereich Biosensorik und biomodifizierte Feldeffekttransistoren.  
01.08.2006 - 30.09.2007 Zivildienstleistender / freiwilliges sozialen Jahres unter der Trägerschaft des Deutschen Roten Kreuzes in der Nephrologie der PHV-Stiftung.

## 12. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit entsprechend den Regeln guter wissenschaftlicher Praxis selbstständig und ohne unzulässige Hilfe Dritter angefertigt habe. Sämtliche aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sowie sämtliche von Anderen direkt oder indirekt übernommenen Daten, Techniken und Materialien sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher bei keiner anderen Hochschule zu Prüfungszwecken eingereicht. Die eingereichte elektronische Version stimmt mit der schriftlichen Version überein.

Darmstadt, 13.02.2020

---

(Hofmann, Daniel Johannes)